

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

DÉVELOPPEMENT D'UNE PLATEFORME DE TYPE LABORATOIRE SUR  
PUCE À BASE DE PHYTOPLANKTONS POUR LA DÉTECTION DE LA TOXICITÉ DE  
L'EAU

THÈSE  
PRÉSENTÉE  
COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DU DOCTORAT EN CHIMIE

PAR  
FLORENT LEFÈVRE

JANVIER 2014

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL  
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.07-2011). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

## REMERCIEMENTS

Cette grande aventure de 4 ans à Montréal n'aurait pas été possible sans la rencontre, le soutien de personnes formidables aux cours de mes années d'études.

Tout d'abord, je tiens à remercier mes parents et mes sœurs pour m'avoir laissé faire ce que je voulais faire. Merci de m'avoir offert cette liberté et de m'avoir donné les moyens pour réaliser ce que je n'aurais jamais pu imaginer accomplir.

Ce projet n'aurait pas été aussi passionnant sans l'appui, le soutien, l'encouragement, la volonté, l'éthique de travail et l'humilité de mes deux directeurs de recherche. Je remercie du fond du cœur Ricardo Izquierdo et Philippe Juneau pour toutes ces années passées ensemble. Vous êtes les deux piliers fondateurs de ma réussite. Je n'aurais jamais pu imaginer meilleurs professeurs, confidents et amis. Merci de m'avoir fait confiance, donné tous les moyens dont vous disposiez, donné cette liberté de recherche, liberté de penser, liberté de travail tout au long de ces années.

Ce projet, qui inclut différents domaines, n'a pu se faire sans l'appui et les discussions avec les différents groupes de recherche des départements de chimie, informatique et biologie de l'UQAM. Merci l'UQAM d'avoir créé cette université qui relie tous ces départements par des passerelles et tunnels, je n'ai jamais autant apprécié la disposition des bâtiments qu'en hiver. Je remercie tous les étudiants de l'UQAM, en commençant par mes deux grands frères de Montréal, qui m'ont accueilli et aidé depuis mon arrivée à Montréal jusqu'à maintenant, merci Mimoun, merci Hocine. Merci aux étudiants de mon groupe de recherche, et surtout Yumo. Merci à Annie, Nathalie et les étudiants de P. Juneau, merci à Mathieu et les étudiants du groupe de S.B. Schougaard, merci Steen. Merci aux étudiants du laboratoire de B. Marsan, merci Benoît. Merci aux étudiants du laboratoire de M. Siaj, merci Mohammed.

Je remercie le Service des partenariats et du soutien à l'innovation et Valeo Management L.P. Merci à Maria G. Macedo et Pryium Koonjul. En plus d'avoir apporté tout

votre soutien à notre projet, je vous remercie pour votre travail et vos efforts. Vous avez apporté une autre dimension à ce projet, j'ai appris énormément à vos côtés.

Je remercie tous les intervenants avec lesquels j'ai pu échanger, intervenir. Je remercie le LMF (laboratoire de microfabrication, polytechnique) et Marie-Hélène, le LIS (laboratoire d'imagerie, de surface) et Pascale Chevalier.

Enfin, je tiens à remercier le département de chimie de l'UQAM, NanoQAM et leur personnel, avec notamment Gwenael Chamoulaud, les techniciens, le personnel de l'administration, et les personnes du magasin de chimie dont Luc Arsenault. Je remercie le ReSMIQ et l'UQAM pour leur soutien financier.

Bien évidemment, je remercie mes amis proches, mes amis français, québécois, canadiens, américains, indiens, brésiliens, mexicains, marocains, tunisiens, libanais, grecs, malaisiens, Israéliens. Pour tout cela, merci Montréal! Merci pour ce multiculturalisme. En particulier, merci Fabiola, Émilie V., Annie, Alik, Juan Carlos, Simon G., Simon L., Mathieu, Jean-François, Claudia, Émilie G., Sandra, Yony, Diana, Guillaume, Philippe. Vous avez été ma famille à Montréal, merci pour tout.



## TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES .....	XI
LISTE DES TABLEAUX.....	XVII
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES .....	XIX
RÉSUMÉ .....	XXI
CHAPITRE I	
INTRODUCTION .....	1
1.1 Critères de qualité de l'eau et méthodes d'analyses associées .....	2
1.1.1 Critères de qualité de l'eau au Québec-Canada .....	2
1.1.2 Analyse par méthodes de chimie analytique .....	3
1.1.3 Tests de toxicologie.....	4
1.2 Problématique .....	6
1.3 Les biocapteurs et bio-essais portables.....	6
1.3.1 Biocapteurs enzymatiques et immunochimiques .....	7
1.3.2 Biocapteurs à base d'organismes vivants.....	7
1.4 Dispositifs de type laboratoire sur puce .....	10
1.5 Objectifs de la thèse.....	11
1.6 Méthodologie abordée .....	12
1.7 Plan .....	13
CHAPITRE II	
TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES .....	15
2.1 Cultures des microorganismes .....	15
2.2 Tests de toxicité avec les micro-algues .....	16
2.2.1 Incubation avec les polluants .....	17
2.2.2 Mesure de fluorescence .....	18
2.2.3 Mesure de la production d'oxygène .....	20
2.4 Fabrication des composants des capteurs optoélectroniques.....	21

2.4.1	Fabrication de la puce microfluidique en PDMS .....	21
2.4.2	Fabrication des dispositifs optoélectroniques organiques .....	23
2.4.3	Fabrication des filtres optiques par absorption .....	26
2.4.4	Protocole de fabrication d'électrodes transparentes à base de nanofils d'argent.....	26
2.5	Caractérisations optiques .....	29
2.5.1	Absorption-transmittance UV-Visible .....	29
2.5.2	Caractéristique spectrale d'émission des OLEDs .....	29
2.5.3	Imagerie des dispositifs et des électrodes en nanofils.....	29
2.6	Caractérisations électriques .....	32
2.6.1	Conductivité des électrodes.....	32
2.6.2	Temps de réaction .....	32
2.6.3	Caractéristiques luminance-intensité-potentiel (LIV) des OLEDs .....	32
2.6.4	Caractéristique I-V (intensité-potentiel) des OPDs.....	32
2.6.5	Mesure de l'EQE (efficacité quantique externe).....	34
2.7	Caractérisations chimiques .....	34
2.7.1	Spectroscopie de fluorescence X à sélection d'énergie (EDS) .....	34
2.7.2	Spectrométrie photoélectronique X (XPS).....	35
2.8	Caractérisations électrochimiques .....	35
2.8.1	Voltammetrie cyclique .....	35
2.8.2	Stabilité à circuit ouvert .....	36
CHAPITRE III		
PLATEFORME MULTI-DÉTECTIONS À BASE DE PHYTOPLANCTONS: PREUVE DE CONCEPT ET POTENTIEL.....		37
3.1	Introduction .....	37
3.2	Principe de la détection de la toxicité des micro-algues par fluorescence et par oxygène.....	39
3.3	Principe des réseaux de neurones artificiels (77) .....	40
3.4	Méthode expérimentale .....	42
3.4.1	Test de complémentarité des mesures d'oxygène et de fluorescence .....	42
3.4.2	Test de complémentarité des espèces de phytoplanctons.....	42
3.4.3	Test du réseau de neurones.....	42
3.5	Complémentarité des mesures d'oxygène et de fluorescence .....	44

3.5.1	Résultats .....	44
3.5.2	Discussion .....	46
3.6	Complémentarité des espèces de phytoplanctons.....	47
3.6.1	Résultats .....	47
3.6.2	Discussion .....	50
3.7	Traitement de données pour la détection de mélanges de plusieurs contaminants .....	53
3.7.1	Résultats .....	53
3.7.2	Discussion .....	55
3.8	Conclusion .....	56
CHAPITRE IV		
CAPTEUR DE FLUORESCENCE À BASE DE DISPOSITIFS		
OPTOÉLECTRONIQUES ORGANIQUES: PRINCIPE ET CARACTÉRISATION DES		
COMPOSANTS.....		
4.1	Introduction .....	57
4.2	Principe du capteur de fluorescence et de ces composants .....	58
4.2.1	Principe de fonctionnement des OLEDs .....	60
4.2.2	Principe de fonctionnement des OPDs.....	61
4.2.3	Les filtres optiques .....	63
4.3.1	Choix de la géométrie du capteur de fluorescence.....	64
4.3.2	Fabrication des composants du capteur de fluorescence.....	66
4.3.3	Caractérisations électriques et optiques des composants .....	67
4.4	Résultats et discussion.....	68
4.4.1	Caractéristique de la puce microfluidique.....	68
4.4.2	Caractéristiques des OLEDs fabriquées.....	69
4.4.3	Caractéristiques des OPDs fabriqués .....	71
4.4.4	Caractéristiques des filtres optiques fabriqués .....	78
4.5	Conclusion .....	85
CHAPITRE V		
MESURE DE TOXICITÉ PAR FLUORESCENCE DANS UNE PUCE		
MICROFLUIDIQUE .....		
5.1	Introduction .....	87
5.2	Procédure expérimentale .....	88
5.2.1	Design et choix des composants du capteur de fluorescence.....	88

5.2.2	Fabrication du capteur de fluorescence .....	90
5.2.3	Mesure de fluorescence .....	91
5.2.4	Mesure de toxicité de l'herbicide diuron .....	92
5.3	Résultats et discussion .....	92
5.3.1	Caractéristiques du capteur intégré .....	92
5.3.2	Caractéristiques de fluorescence des phytoplanctons : mode de détection .....	96
5.3.3	Mesure de fluorescence des micro-algues à différentes concentrations .....	98
5.3.4	Mesure de toxicité avec le diuron .....	100
5.4	Conclusion .....	103
CHAPITRE VI		
ÉLECTRODES TRANSPARENTES EN NANOFILS MÉTALLIQUES :		
FABRICATION ET POTENTIEL D'UTILISATION .....		105
6.1	Introduction .....	105
6.2	Partie expérimentale .....	106
6.3	Résultats et discussion .....	107
6.3.1	Produit de la synthèse de nanofils .....	107
6.3.2	Propriétés physiques des électrodes en nanofils d'argent .....	110
6.3.3	Propriétés électrochimiques des électrodes en nanofils d'argent .....	115
6.3.4	Dépôt de platine sur les nanofils d'argent .....	123
6.4	Conclusion .....	130
CHAPITRE VII		
MESURE DE TOXICITÉ AVEC UN CAPTEUR D'OXYGÈNE TRANSPARENT EN		
NANOFILS .....		131
7.1	Introduction .....	131
7.2	Fabrication du capteur opto-ampérométrique .....	132
7.2.3	Design du capteur .....	134
7.2.4	Fabrication du capteur .....	134
7.2.1	Mesure d'oxygène .....	137
7.3	Résultats et discussion .....	137
7.3.1	Caractéristiques générales du dispositif .....	137
7.3.2	Caractéristiques électrochimiques des 3 électrodes .....	139
7.3.4	Mesure de toxicité du diuron .....	145
7.4	Conclusion .....	148

CHAPITRE VIII	
CONCLUSION.....	149
8.1 Sommaire des résultats .....	149
8.2 Discussion des principales contributions.....	150
8.3 Amélioration et perspectives projet.....	152
8.3.1 Amélioration du matériel biologique .....	152
8.3.2 Amélioration du capteur de fluorescence.....	153
8.3.3 Amélioration du capteur d'oxygène.....	154
8.3.4 Perspectives du projet.....	155
ANNEXE A	
LISTE DES PRODUITS CHIMIQUES UTILISÉS .....	149
ANNEXE B	
PROCÉDURES DE LITHOGRAPHIE.....	161
B.1 Recette de lithographie de la résine positive S1811 (Shippley®).....	161
B.4 Gravure chimique des motifs.....	161
B.5 Déprotection des échantillons.....	162
ANNEXE C	
COURBES DOSES RÉPONSES DES PHYTOPLANCTONS AUX DIVERS POLLUANTS .....	163
RÉFÉRENCES .....	167



## LISTE DES FIGURES

Figure	Page
2.1	Formule chimique des différents polluants utilisés. .... 17
2.2	Photo de nanofils d'argent au microscope optique (x500).....30
2.3	Imagerie MEB de nanofils d'argent .....31
2.4	Imagerie AFM de nanofils d'argent .....31
2.5	schéma de calcul des paramètres d'une diode photovoltaïque .....33
3.1	Comparaison schématique entre un neurone biologique et artificiel (adapté de (77))... ..40
3.2	Schéma de la structure d'un ANN multicouche (adapté de (74)). .....41
3.3	Effet de l'atrazine sur la fluorescence et la production d'oxygène de CCPC299 au bout de 24 h d'exposition (variation par rapport au témoin). ....45
3.4	Effet du glyphosate sur la production d'oxygène de CCPC299 au bout de 24 h d'exposition (variation par rapport au témoin).....46
3.5	Mesure de cinétique fluorescence des espèces CC125, CPCC299, CCPC632 et CCPC5 (témoin, 10 nM et 50 nM de diuron) au bout de 30 min d'incubation.....47
3.6	Variation des paramètres de fluorescence ( $E_t/R_C$ , $ABS/R_C$ , $DI_0/R_C$ et $Tr_0/R_C$ ) des espèces CC125, CCPC299, CCPC632 et CCPC5 en fonction de la concentration des polluants simazine, diuron, atrazine et paraquat (incubation 30 min sous lumière de $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ). ....49
3.7	Effet du diuron, de l'atrazine et de la simazine sur le paramètre $E_t/R_C$ pour les espèces CC125, CCPC5, CCPC632 et CCPC299. ....50
3.8	Courbes de performance (erreur quadratique moyenne et matrice de confusion) du réseau de neurones obtenu avec les polluants seuls et les mélanges binaires de polluants. ....54
4.1	Principe de fluorescence à base de dispositif organique. ....59
4.2	Schéma de la structure des dispositifs organiques. ....60
4.3	Principe de fonctionnement des OLEDs. ....61

4.4	Principe de fonctionnement des OPDs. ....	62
4.5	Différents agencements possibles pour la détection de fluorescence à base de dispositifs organiques (image non à l'échelle). ....	65
4.6	Vue explosée du capteur de fluorescence à base de dispositifs organiques. Autour de la puce microfluidique (c) se trouvent de part et d'autre les OLEDs (e), les OPDs (a) et le filtre d'excitation (d) et d'émission (b). ....	66
4.7	Image de la puce microfluidique en PDMS fabriquée. ....	68
4.8	Photo d'OLEDs bleues et vertes sur une même plaque de verre. ....	69
4.9	a. Spectre d'émission des OLEDs verte Alq <sub>3</sub> et bleue DPVBi. b. Courbe I-V des OLEDs vertes Alq <sub>3</sub> et bleues DPVBi fabriquées. ....	71
4.10	Caractéristiques I-V des diodes P3HT/PCBM et PTB3/PCMB fabriquées. ....	72
4.11	EQE des diodes P3HT/PCBM et PTB3/PCMB fabriquées. ....	74
4.12	a. Réponse en fréquence de la diode PTB3/PCBM. b. Temps de réponse de la diode PTB3/PCBM sous des pulses lumineux à 1kHz. ....	77
4.13	Caractéristiques spectrales entre 600 et 750 nm des OLEDs DPVBi et Alq <sub>3</sub> fabriquées avec et sans filtre d'excitation interférentielles ( $f_c = 650$ nm). ....	79
4.14	Spectre d'absorption de colorants aqueux (incorporés dans un film de gélatine, 100 nm d'épaisseur). ....	81
4.15	Spectres normalisés de transmittance de filtres d'absorption à base de colorants aqueux dans de la gélatine (100 nm d'épaisseur). ....	82
4.16	Spectre de transparent des filtres à base de violet basique 3 à différentes concentrations en colorants. ....	83
4.17	Spectre normalisé d'absorption de pigments (film évaporé). ....	84
4.18	Spectre de transparence du filtre optique d'absorption à base de (TOMA) <sub>2</sub> CoBr <sub>4</sub> . ..	85
5.1	Spectre d'absorption des différents pigments des espèces de phytoplanctons (I22). ....	89
5.2	Coupe transverse du capteur de fluorescence à base de dispositif organique pour la mesure de fluorescence des algues vertes. L'OLED bleue (e), placée en dessous de la puce microfluidique, excite les algues injectées dans la puce, l'émission de fluorescence des algues est captée par le photodétecteur organique (a) directement placé au-dessus de la puce. De part et d'autre de la puce microfluidique sont insérés les filtres optiques d'émission (d) et d'excitation (b). ....	89
5.3	Schéma de mesure de fluorescence dans la puce microfluidique. ....	91



5.4	Photos du dispositif de fluorescence. ....	93
5.5	a. Spectre d'absorption des algues vertes CC125 avec l'émission de l'OLED DPVBi en fonction des longueurs d'onde. b. Spectre d'émission des algues vertes CC125 avec l'EQE du photodétecteur PTB3 en fonction des longueurs d'onde.....	94
5.6	Comparaison en l'atténuation des filtres optiques d'absorption (ligne pleine) et d'interférence (ligne en pointillé) en fonction des longueurs d'onde.....	96
5.7	Réponses de fluorescence des algues CC125 en fonction du temps. ....	97
5.8	a. Réponse de fluorescence des algues CC125 à différentes concentrations algales. b. Intégration de l'air de fluorescence en fonction de la concentration algal (la ligne en pointillée rouge représente la limite de détection ( $S/B=3$ ))......	99
5.9	Fluorescence des micro-algues à différentes concentrations en Diuron (dispositif microfluidique).....	101
5.10	Fluorescence des micro-algues à différentes concentrations en Diuron (PEA). ....	101
5.11	Courbe dose réponse du facteur d'inhibition des deux appareils : commercial et notre capteur intégré. ....	103
6.1	Schéma des électrodes fabriquées en nanofils d'argent par lithographie.....	106
6.2	a. Photo du résultat de la synthèse de nanofils d'argent. b. Solution de nanofils d'argent dans l'IPA prête pour la fabrication des électrodes. ....	108
6.3	Distribution de taille des nanofils d'argent obtenus par la synthèse chimique améliorée de Xia et coll. ....	109
e 6.4	Imagerie MEB des nanofils d'argent.....	109
6.5	Transparence des électrodes en nanofils d'argent pour différente résistance par carré .....	111
6.6	Résistance par carré des électrodes en nanofil d'argent en fonction de leur transmittance.....	112
6.7	Photo d'une électrode en nanofils d'argent (75% de transparence).....	113
6.8	Image MEB d'une électrode en nanofils d'argent.....	114
6.9	Aire des trous entre les nanofils. ....	114
6.10	Voltammétrie cyclique d'une électrode Nws Ag ( $2 \text{ mm}^2$ ). ....	116
6.11	Voltampérométrie cyclique dans du KCl 0,1 M d'une électrode en nanofils d'argent entre 0 et -0.7 V à différente vitesse de balayage (vs Ag/AgCl (3 M)). ...	118
6.12	Voltampérométrie cyclique de 3 électrodes en nanofils d'argent entre -1 et 1 V (vs Ag/AgCl (3 M)) dans du PB, PB + 0,1 M KBr, PB + 0,1 M KCl.....	120

6.13	a. Image MEB et b. les mesures EDS associées des nanofils d'argent (les aires en violet représentent les aires de détection EDS). ....	122
6.14	Photo d'une électrode nanofils d'argent (gauche) et d'une électrode nanofils d'argent recouverts de platine (droite). ....	124
6.15	Images MEB de nanofils d'argent avec différent dépôt de platine (a. pas de platine, b. et c. 1 mC/mm <sup>2</sup> , d. 15.5 mC/mm <sup>2</sup> ). ....	126
6.16	Spectre EDS d'une électrode en nanofils d'argent avec du platine (1 mC/mm <sup>2</sup> ). .	127
6.17	Spectre XPS d'une électrode en nanofils d'argent avec du platine 1 mC/mm <sup>2</sup> (rouge : nanofils Ag, vert : nanofils Ag-Pt). ....	128
6.18	Voltampérométrie cyclique dans du KCl 0,1 M entre 0 et -0.7 V (vs Ag/AgCl (3 M)) d'électrode nanofils d'Ag-Pt à différents dépôts de Pt. ....	129
6.19	Voltampérométrie cyclique dans du KCl 0,1 M d'une électrode en nanofils d'Ag-Pt entre 1 et -0.7 V (vs Ag/AgCl (3 M)). ....	130
e 7.1	Schéma de principe du capteur d'oxygène. ....	133
7.2	Coupe transverse du capteur opto ampérométrique intégré (gauche) et la vue de dessus du capteur ampérométrique (droite). L'OLED (c) est placée en dessous du capteur ampérométrique (b) qui se trouve dans la cavité fluïdique (a). Le capteur ampérométrique se compose d'une WE (rouge), CE (bleue) et RE (orange). ....	134
7.3	Schéma de fabrication du capteur ampérométrique en nanofils métalliques. ....	136
7.4	Photos du capteur ampérométrique totalement en nanofils métalliques. ....	138
7.5	Photos du dispositif complet, avec l'OLED placée directement sous la puce qui inclut le capteur ampérométrique. ....	138
7.6	a. Spectre d'émission de l'OLED bleue avec le spectre d'absorption des algues CC125. b. Spectre de transmission des électrodes du capteur ampérométrique. ....	139
7.7	Stabilité de l'électrode de référence dans du KCl 0,1M au court du temps par rapport à Ag/AgCl (3 M). ....	140
7.8	Voltampérométrie cyclique entre 0 et -0,5 V vs AgO(nanofils) dans du HSM sans oxygène et avec des phytoplanctons. ....	141
7.9	Tension de la contre électrode au courant du temps pour un courant imposé de 1 µA. ....	143
7.10	Évolution de l'oxygène des phytoplanctons au court du temps sous des pulses lumineux de 1 min. ....	145

7.11	Respiration et Production d'oxygène des phytoplanctons CC125 avec et sans présence de polluant (1uM Diuron) mesuré avec notre dispositif.....	146
7.12	Respiration et Production d'oxygène des algues CC125 avec et sans présence de polluant (1uM Diuron) mesuré avec l'Oxylab .....	146
C.1	Et <sub>0</sub> /RC, ABS/RC, DI <sub>0</sub> /RC et Tr <sub>0</sub> /RC des quatre phytoplanctons (CC125, CCPC5, CCPC299 et CCPC632) en fonction de la concentration en atrazine (μM).....	163
C.2	Et <sub>0</sub> /RC, ABS/RC, DI <sub>0</sub> /RC et Tr <sub>0</sub> /RC des quatre phytoplanctons (CC125, CCPC5, CCPC299 et CCPC632) en fonction de la concentration en diuron (μM).....	164
C.3	Et <sub>0</sub> /RC, ABS/RC, DI <sub>0</sub> /RC et Tr <sub>0</sub> /RC des quatre phytoplanctons (CC125, CCPC5, CCPC299 et CCPC632) en fonction de la concentration en simazine (μM). ....	165
C.4	Et <sub>0</sub> /RC, ABS/RC, DI <sub>0</sub> /RC et Tr <sub>0</sub> /RC des quatre phytoplanctons (CC125, CCPC5, CCPC299 et CCPC632) en fonction de la concentration en paraquat (μM).....	166



## LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
1.1 Récapitulatif des principales méthodes d'analyses utilisées dans les laboratoires accrédités pour analyser la pollution chimique de l'eau. ....	4
1.2 Tests de toxicité homologués au Québec. ....	5
2.1 Différents paramètres de fluorescence calculés (64).....	19
3.1 Concentrations de polluant testées pour l'ANN. ....	43
3.2 Classes de sorties de l'ANN.....	43
3.3 Différents ECx en fonction des polluants et des phytoplanctons. ....	52
4.1 Comparaison des paramètres des diodes P3HT/PCBM. ....	73
4.2 Comparaison des paramètres des diodes PTB3/PCBM.....	73
4.3 Effet de l'épaisseur de la couche organique sur les caractéristiques électriques des diodes.....	75
4.4 Effet du PEDOT-PSS sur les caractéristiques électriques des diodes.....	76
4.5 Caractéristiques des photodétecteurs organiques. ....	78
6.1 Calcul de la surface électrochimique effective des électrodes d'Ag.....	117
6.2 Comparaison du courant électrochimique entre les électrodes d'Ag pleine et en nanofils. ....	119
7.1 Effet du diuron sur la production d'oxygène des algues CC125.....	148



## LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

A	Atrazine
Ag	Argent
AgNO <sub>3</sub>	Nitrate d'argent
AgNWs	Nanofils d'argent
AgOx	Oxyde d'argent
Alq <sub>3</sub>	Tris(8-hydroxyquinoléine)aluminium(III)
ANN	Réseau de neurones artificiel
BCP	Bathocuproïne
C <sub>60</sub>	Footbalène
CCME	Conseil Canadien des Ministres de l'Environnement
CEAEQ	Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec
Cl	Chlore
CO <sub>2</sub>	Dioxyde de carbone
CuCl <sub>2</sub>	Chlorure de cuivre II
CuPc	Phtalocyanines de cuivre
D	Diruon
DPVBi	4,4'-bis(2,2'diphenylvinyle)-1,1'-biphenyle
EBL	Couche bloqueuse de trou
EL	Couche d'émission de photon
EDS	Analyse dispersive en énergie
ETL	Couche de transport d'électrons
HBL	Couche bloqueuse de trou
HOMO	Orbitale moléculaire la plus haute en énergie occupée
IPA	Alcool isopropylique

ITO	Oxyde d'indium et d'étain
IV	Intensité potentiel
KBr	Bromure de potassium
KCl	Chlorure de potassium
LED	Diode électroluminescente
LIV	Luminance-Intensité potentiel
LUMO	Orbitale la plus basse en énergie non occupée
MDEQ	Michigan Department of Environmental Quality
MEB	Microscope électronique à balayage
NWs	Nanofils
NPB	N,N'-Di-[(1-naphthyl)-N,N'-diphenyl]-1,1'-biphenyl)-4,4'-diamine
O <sub>2</sub>	Oxygène
OER	Objectifs environnementaux de rejets
OLED	Diode électroluminescente organique
OMS	Organisation mondiale de la santé
OPD	Diode photosensible organique
P3HT	Poly(3-hexylthiophène)
PB	Tampon phosphate
PCBM	[6,6]-phényl-C61-butanoate de méthyle
PSI	Photosystème I
PSII	Photosystème II
PVP	Poly vinylpyrrolidone
S	Simazine
Pt	Platine
TEAP	Perchlorate de tétraéthylammonium
TOMA	Méthyl trioctylammonium
UQAM	Université du Québec À Montréal
U.S. EPA	Agence américaine de protection de l'environnement
XPS	Spectrométrie photoélectronique X



## RÉSUMÉ

Il n'existe à ce jour ni d'alternative ni de solution complémentaire aux équipements de laboratoires coûteux et encombrants pour mesurer la qualité de l'eau. En complément des analyses chimiques traditionnelles, qui sont coûteuses et qui demandent du personnel qualifié, existent les bioessais à base d'organismes vivants. Bien qu'ils offrent un avantage certain pour les mesures préventives et en continu de la toxicité globale, aiguë ou chronique, d'une source de contamination, ils doivent être pratiqués en laboratoire et prennent aussi plusieurs jours. Il n'existe aucun test portable, léger et intégré qui peut procéder à plusieurs détectations en simultanées afin de mesurer la qualité générale ou la toxicité de l'eau sur place et en continu, qui pourraient compléter des analyses traditionnelles dans les laboratoires. Aucun outil d'alarme n'est disponible pour une détection précoce de la pollution.

L'objectif principal de cette thèse était de développer un dispositif qui mesure la toxicité de l'eau. Nous voulions d'une part démontrer tout le potentiel d'intégration de plusieurs détecteurs et plusieurs microorganismes dans un même dispositif, et d'autre part démontrer qu'il était possible de fabriquer une plateforme microfluidique à base de phytoplanctons et de cyanobactéries qui intégrerait divers capteurs optoélectroniques. Pour ce faire, nous devons démontrer la complémentarité à la fois des différentes espèces de phytoplanctons, mais aussi de différents capteurs qui peuvent être intégrés sur la même plateforme afin de mesurer la qualité de l'eau, tout en essayant de démontrer qu'il serait possible d'obtenir une certaine spécificité dans la détection à l'aide d'une analyse des données. Parallèlement, nous devons développer deux types de capteurs qui peuvent mesurer des paramètres différents du métabolisme tout en étant compatibles dans leur fabrication et leur intégration. Nous voulions révéler le potentiel à la fois des dispositifs optoélectroniques organiques pour la détection de fluorescence, mais aussi le potentiel des nanofils métalliques pour les détectations électrochimiques.

Notre approche permet de diminuer de façon importante les coûts, car seuls les échantillons identifiés comme toxiques seraient analysés de façon complète par des laboratoires spécialisés. De plus, la combinaison de la microfluidique et des dispositifs optoélectroniques organiques pour la détection répond entièrement à la problématique de portabilité et de miniaturisation afin de limiter les manipulations d'opérateur sur le terrain. L'association de la multidétection en utilisant plusieurs différentes espèces permet d'avoir un test beaucoup plus fiable sur le plan qualitatif de la mesure en augmentant la liste de polluants détectés, mais permet aussi d'envisager un test sélectif sur les catégories de polluant présent puisque chaque espèce a une morphologie et une physiologie propre et donc leur sensibilité aux polluants diffère. Ce type de bio-essai serait le premier du genre par son caractère à la fois qualitatif et quantitatif et il répondrait au besoin d'avoir un test portable

pour des mesures sur place tant dans les domaines environnementaux, industriels, agroalimentaires et militaires.

**MOTS CLÉS :** Bio-essai, algues, phytoplanctons, cyanobactéries, laboratoire sur puce, toxicité, dispositifs organiques, OLED, photodétecteur, nanofils, fluorescence, oxygène.

## CHAPITRE I

### INTRODUCTION

L'avancement de la chimie analytique, grâce à des appareils complexes de chromatographie, de spectroscopie, etc. a nettement contribué à la précision et la rapidité des diagnostics (1). Pourtant, la grande majorité des tests d'analyse, dont l'analyse des eaux (de consommation, rivières, lacs, océans), n'est pas accessible à la population, car ils sont souvent pratiqués en laboratoire. La grande diversité des analyses, qu'il faut pratiquer pour évaluer la qualité de notre eau, a pour conséquence qu'à ce jour aucun appareil portable n'est capable de faire tous ces tests à la fois sur place et en un minimum de temps.

C'est sur ce constat que cette thèse, présentée dans ce manuscrit, vise à offrir la possibilité de se procurer, à faible coût, un test ou un kit de test de pollution de l'eau qui sera simple d'utilisation, portable, intégrant des technologies complexes qui ne sont présentement pas disponibles pour le grand public. Une véritable preuve de concept d'intégration de plusieurs capteurs (de fluorescence et opto-ampérométriques), utilisant des dispositifs optoélectroniques organiques et à base d'espèces de phytoplanctons dans une plateforme microfluidique a été développée dans le but d'avoir un véritable dispositif portable pour mesurer la pollution chimique de l'eau.

Ce projet a nécessité l'intégration de plusieurs technologies de domaines scientifiques divers dans le but de développer le dispositif le plus adapté à la mesure de pollution avec des espèces de phytoplanctons. En effet, cette thèse est un exemple concret que les dispositifs d'avenir devront combiner avec plusieurs technologies de domaines aussi bien complémentaires que distinctes, afin de répondre aux problématiques des futures applications. Les retombées scientifiques, à travers des articles scientifiques publiés ou en

voie de l'être (2, 3), les retombées économiques de ce projet grâce à un brevet canadien (4), un brevet US/PCT (5) et deux déclarations d'invention déposées le 9 septembre 2013 (6, 7), auront certainement un impact dans le secteur de l'analyse de l'eau et de l'environnement en général.

Nous allons dans ce chapitre exposer dans un premier temps l'état actuel des analyses de l'eau, avec les technologies existantes et les défis auxquels nous sommes confrontés, avant de présenter les objectifs, la méthodologie abordée et le plan de thèse.

## 1.1 Critères de qualité de l'eau et méthodes d'analyses associées

### 1.1.1 Critères de qualité de l'eau au Québec-Canada

L'eau est une ressource importante au Québec et au Canada, 3 % de la quantité totale d'eau douce renouvelable mondiale se trouve au Québec (8). La question de la qualité et de la préservation de l'eau est donc une problématique essentielle afin de préserver cette ressource. C'est pourquoi le Québec et le Canada se sont dotés de politiques très strictes et exigeantes en matière de gestion et de protection de la qualité de l'eau (9). Pour ce faire, les gouvernements se sont ainsi basés sur les critères relatifs à la qualité de l'eau afin de protéger la vie aquatique, la santé humaine et la faune terrestre. Ces critères de pollution varient en fonction du lieu et l'utilisation de l'eau. On peut néanmoins les classer suivants s'il s'agit d'eaux de surface (10) (lac, rivière) ou d'eaux souterraines (11) (nappes phréatiques). Les souterraines sont une ressource importante pour les milieux ruraux, producteurs agricoles, et celles de surface englobent les eaux de consommation, eaux récréatives, eaux usées... Aucune harmonisation des critères de qualité de l'eau n'existe à l'échelle mondiale, cependant ils peuvent être communs à plusieurs pays et organismes. Ainsi, les critères québécois et canadiens de qualité de l'eau s'appuient sur ceux de l'U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA), le Michigan Department of Environmental Quality (MDEQ), l'Organisation mondiale de la santé (OMS). Même si ce ne sont pas des normes, et n'ont pas de valeurs légales (les normes tiennent compte aussi des limites de détection des appareils), ces critères servent de base à la législation (établissement des normes) et aux objectifs environnementaux de rejets (OER) fixés par les gouvernements.

Ainsi, afin d'assurer la protection de la santé des écosystèmes aquatiques, des organismes terrestres et de l'humain, deux classes de critères ont été établies pour évaluer la santé des écosystèmes : ceux de qualité chimique propres à chaque substance et ceux relatifs à la toxicité globale de l'eau. La grande diversité des types d'analyse et des lieux où l'on a besoin de mesurer la qualité de l'eau pose ainsi un problème logistique au Québec comme partout dans le monde. Car seuls les laboratoires agréés peuvent effectuer des analyses de qualité de l'eau homologuées malgré le fort besoin de pouvoir effectuer sur place et en continu ces types d'analyses.

#### 1.1.2 Analyse par méthodes de chimie analytique

Le problème est relié au fait que pour satisfaire aux exigences en matière de limite de détection et de fiabilité, les analyses chimiques sont pratiquées dans des laboratoires spécialisés et accrédités. Le tableau 1.1 regroupe les principales techniques d'analyse utilisées dans les laboratoires et approuvées par Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec (CEAEQ) et le Conseil Canadien des Ministres de l'Environnement (CCME) (12). Ces différentes techniques d'analyse de chromatographie, de spectroscopie répondent parfaitement aux exigences en matière de limite de détection et de fiabilité. Ces techniques demandent la présence de personnel de techniciens qualifiés et nécessitent dans la plupart des cas une étape de pré concentration (extraction liquide-liquide, extraction solide-liquide, ...) (13, 14). Les appareils nécessaires sont coûteux et encombrants. Ces techniques ne sont donc pas adaptées pour des mesures sur place et pour des mesures en continu.

Ces analyses tiennent seulement compte des contaminants au préalable reconnus comme tels. Elles sont toutes quantitatives, elles permettent seulement de quantifier les concentrations des espèces chimiques que l'on a auparavant choisi d'analyser. Même si le coût et le temps d'analyse sont relativement peu importants dans le cas de quelques contaminants à analyser, ils deviennent rapidement très élevés si leur nombre est plus important.

**Tableau 1.1** Récapitulatif des principales méthodes d'analyses utilisées dans les laboratoires agréés pour analyser la pollution chimique de l'eau.

Méthode d'analyse	Polluants analysés	Limites de détection
Méthodes chromatographiques : (liquide/gazeuse/) + couplage MS ionique	Pesticides, organo-volatiles, Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) Anions (nitrates...)	ppb
Spectroscopie de masse (ICP-MS)	métaux	ppb
Absorption atomique	métaux	ppb
Méthode colorimétrique	Azote, nitrate/nitrites, phosphore...	ppm

### 1.1.3 Tests de toxicologie

En complément des analyses traditionnelles chimiques qui ont été citées précédemment, les ministères de l'environnement canadien et du Québec se sont dotés de critères relatifs à la toxicité globale des effluents (10). Les critères relatifs à la toxicité globale sont en complément des critères chimiques des eaux et répondent à la problématique de l'analyse globale d'un échantillon complexe (composé de plusieurs contaminants dont les effets toxiques sont connus ou non). Il existe deux types de test de toxicité : toxicité chronique et toxicité aiguë. Les critères de toxicité aiguë répondent à la problématique de tests préventifs pour les effluents, avant son mélange au milieu aquatique et donc avant que ces eaux soient potentiellement dangereuses pour la vie aquatique et pour l'homme. Tandis que les critères de toxicité chronique servent de seuil d'effet indésirable d'une substance lorsque celle-ci serait maintenue continuellement dans le milieu (15). Le tableau 1.2 regroupe les tests de toxicité homologués au Québec (12, 16) pour les tests de pollution chronique et aiguë.

**Tableau 1.2** Tests de toxicité homologués au Québec.

Type de toxicité	Organisme (espèce)	Test	Durée
Aiguë	Microcrustacé ( <i>Daphnia magna</i> )	Mortalité	48 h
Aiguë	Truite arc-en-ciel ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	Mortalité	48 h
Aiguë	Larve de tête-de-boule ( <i>Pimephales promelas</i> )	Létalité	48 h
Chronique	Larve de tête-de-boule ( <i>Pimephales promelas</i> )	Survie et croissance	7 jours
Chronique	Algue ( <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> )	Croissance	96 h

Les tests de toxicité homologués sont des bio-essais à base d'organismes vivants (les moules, poissons, phytoplanctons), qui permettent de mesurer des indices de toxicité des eaux. L'évaluation de la toxicité globale d'un échantillon complexe en contaminants est un avantage majeur des tests biotoxécologiques. Ces tests de toxicité sont moins sensibles que les analyses chimiques, leur seuil de détection pour des polluants spécifiques est plus élevé. Pourtant, ils se placent en complément des analyses chimiques, car ils donnent une indication de toxicité de plusieurs substances à la fois. Les tests de toxicité aiguë sont en prévention et en amont des tests chimiques traditionnels. Alors que les tests de toxicité chronique sont généralement pratiqués pour les études sur l'environnement (étude de l'impact de polluant à long terme sur l'écosystème). Cependant, leur mise en œuvre est longue, de quelques heures à plusieurs jours et nécessitent aussi du personnel qualifié en laboratoire. En effet, ils doivent respecter des protocoles de préparation très stricts, et doivent se pratiquer en milieu contrôlé (température, temps...) pour la plupart d'entre eux. C'est pourquoi, ces types d'analyse ne sont pas effectués sur place, bien que les entreprises, municipalités et même les particuliers (eaux de puits) sont obligés de les faire régulièrement au cours de l'année.

Un autre problème relatif aux tests de toxicité concerne le choix des espèces testées. Bien qu'ils donnent une réponse globale sur l'évaluation de la pollution de l'eau par rapport



aux analyses chimiques, seule une espèce pour chaque organisme vivant est testée à la fois. Il se pose alors le problème de la représentativité des résultats. En effet, ces mesures de toxicité donnent une indication précise sur la toxicité de cette espèce, mais pas sur toutes les espèces. Nous pouvons prendre l'exemple des phytoplanctons, où la *Pseudokirchneriella subcapitata* est actuellement homologuée, son test de croissance (sur 96 h) donne seulement une indication sur la toxicité des contaminants pour cette espèce, sans pour autant apporter de réponse sur l'effet toxique sur toutes les espèces de phytoplanctons.

Certes, les tests de toxicité offrent de nombreux avantages par rapport aux analyses chimiques, cependant ils sont limités par leur sensibilité et la représentativité des espèces choisies. Ils sont freinés par le coût et la logistique que cela demanderait si plusieurs espèces étaient testées en un minimum de temps. En théorie, les tests de toxicité chroniques devraient être fait en moyenne tous les quatre jours, tandis que les tests de toxicité aigus en moyenne toutes les heures (17) pour une surveillance idéale de la qualité des eaux. En pratique, il est impossible de pouvoir donner une évaluation respectant ces contraintes.

## 1.2 Problématique

Il n'existe à ce jour ni d'alternative ni de solution complémentaire aux équipements de laboratoires coûteux et encombrants pour mesurer la qualité de l'eau. En complément des analyses chimiques traditionnelles, qui sont coûteuses et demandent du personnel qualifié, existent les bioessais à base d'organismes vivants. Bien qu'ils offrent un avantage certain pour les mesures préventives et en continu de la toxicité globale, aiguë ou chronique, d'une source de contamination, ils doivent être pratiqués en laboratoire et prennent aussi plusieurs jours. Il n'existe aucun test portable, léger et intégré qui peut procéder à plusieurs détectations en simultanées afin de mesurer la qualité générale ou la toxicité de l'eau *in situ* et en continu, et qui pourrait compléter des analyses traditionnelles dans les laboratoires. Aucun outil d'alarme n'est disponible pour une détection précoce de la pollution.

## 1.3 Les biocapteurs et bio-essais portables

Les biocapteurs et bio-essais portables sont une alternative à ces analyses coûteuses. Ils sont sensibles et facilement destinés aux mesures en continu. Contrairement aux analyses chimiques analytiques conventionnelles, leurs principaux avantages sont la possibilité d'avoir



un test portable, miniaturisé pouvant être utilisé directement sur le terrain. Plusieurs biocapteurs, de technologies diverses, existent présentement, de nombreuses revues bibliographiques en font référence (18-22).

#### 1.3.1 Biocapteurs enzymatiques et immunochimiques

Les biocapteurs de type enzymatiques (23-27), et immunochimiques de type ÉLISA (de l'anglais enzyme-linked immunosorbent assay) (28), permettent de détecter la présence de polluants avec des seuils de détection très bas (de l'ordre du ppb). Cependant, en plus du fait qu'il est très difficile de fabriquer ce type de dispositifs, ils sont limités à la détection d'un seul contaminant à la fois, car ils sont très spécifiques. Il est presque impossible de développer un test dépistant tous les polluants en même temps, compte tenu de la difficulté de synthétiser des anticorps, ou des enzymes spécifiques pour chaque molécule et ses dérivés de polluant retrouvés dans la nature.

#### 1.3.2 Biocapteurs à base d'organismes vivants

Utiliser des êtres vivants, comme pour les bio-essais homologués avec des larves, poissons ou moules est l'option la plus intéressante pour obtenir un biocapteur qualitatif (29). Parmi les espèces biologiques, les micro-algues, cyanobactéries et bactéries sont les plus appropriées pour obtenir un capteur portable et miniature (30-32). Différents dispositifs avec des membranes de cellules ou des cytoplasmes ont été développés (33-37). Malgré leur sensibilité, ils sont très difficiles à fabriquer et n'ont pas de longues durées de vie. Ils perdent surtout l'avantage des cellules entières d'être sensibles à plusieurs contaminants, car en isolant des organites spécifiques, la sensibilité du métabolisme global est perdue en même temps.

Nous avons donc au cours de cette thèse travaillé sur la mise au point d'un bio-essai portable à base de micro-algues et de cyanobactéries. Ce type de dispositif permettrait de donner une mesure directe, sur place, de la toxicité globale des échantillons. Les micro-algues et cyanobactéries sont très sensibles, car elles sont des organismes unicellulaires. Elles ont aussi la particularité d'être capables de photosynthèse. Elles sont notamment connues pour être très sensibles aux herbicides, car ces polluants agissent directement dans le cycle de photosynthèse (38). Globalement, ces espèces, comme tous microorganismes aquatiques, sont

sensibles à la toxicité globale de l'eau. De plus, elles se distinguent aussi par la grande diversité d'espèces existantes à travers le monde où il existe plusieurs centaines de milliers d'espèces. De plus, leur grande diversité génétique se traduit par une grande diversité de sensibilité des espèces aux polluants (39, 40).

La mesure de la toxicité des contaminants sur les micro-algues et cyanobactéries peut se faire par la détection de plusieurs paramètres (32) : par la mesure du taux de croissance, de la formation d'ATP, de fixation du  $\text{CO}_2$  ou d'évolution d'oxygène, la variation de conductivité, la variation de fluorescence, par les radicaux libres produits ou consommés, variation d'enzymes, etc. Tous ces tests sont autant de techniques d'analyse pour mesurer les paramètres physiologiques affectés des micro-algues et cyanobactéries. Ils n'intègrent cependant pas nécessairement les effets sur l'ensemble du métabolisme, ce que fait la croissance cellulaire. C'est pourquoi seule la mesure de la croissance cellulaire des micro-algues sous 96 h est le test de toxicité homologué par le CEAEQ. Cependant, cette mesure n'est pas adaptée pour des mesures « rapides » et encore moins portables. C'est pourquoi plusieurs biocapteurs et bio-essais portables mesurant des paramètres locaux dans le métabolisme des phytoplanctons ont été développés pour des mesures plus rapides. Nous pouvons ainsi classer ces dispositifs portables en fonction de leur mode de détection :

- Détection de la conductivité (41-46) : des capteurs de conductivité ont été développés pour mesurer l'activité enzymatique localisée dans la membrane externe des phytoplanctons. En effet, l'activité de l'alkaline phosphatase ou l'activité des estérases sont inhibées en présence de métaux. Des capteurs de conductivité, basés sur une mesure différentielle entre 2 électrodes, ont mesuré la conductivité globale de mono-couches de phytoplanctons fixées sur les électrodes.

- Détection par pH-ISFET (47) : un exemple de capteur pH de type ISFET a été montré pour mesurer les variations de pH causé par les variations de concentrations extracellulaires de  $\text{CO}_2$  lors du processus photosynthétique.

- Détection opto-ampérométrique (34, 48-50) : le potentiel des capteurs opto-ampérométriques a été montré pour la détection de la production d'oxygène. Même si aucun capteur intégré n'a été fait avec tous les composants assemblés ensemble, le potentiel de détection d'oxygène a néanmoins été prouvé. L'oxygène est un produit de photosynthèse des

phytoplanctons, en présence de lumière, les phytoplanctons produisent de l'oxygène qui sort de la cellule pour être détecté par un capteur ampérométrique. Des électrodes d'ITO (oxyde d'indium et d'étain), et de carbone ont notamment été testées et ont permis de détecter des variations dans la production d'oxygène en présence de polluant inhibiteur de photosynthèse. Ces capteurs sont facilement miniaturisables, même si les dimensions des électrodes développées jusqu'ici sont plutôt de l'ordre de 20 à 40 mm<sup>2</sup>.

- Détection de la fluorescence (37, 51-53) : plusieurs dispositifs portables pour la fluorescence des phytoplanctons, commerciaux ou en développement dans les universités, ont montré le potentiel de sensibilité et de rapidité de la détection de fluorescence. La fluorescence est le paramètre physiologique le plus utilisé pour mesurer l'efficacité photochimique du photosystème II (PSII) et plus généralement pour mesurer d'une façon simple, rapide et fiable la toxicité de contaminants (38). Elle est notamment très sensible pour la détection des contaminants qui affectent la photosynthèse (herbicides et métaux par exemple) (54). Néanmoins, bien que portables, les systèmes développés jusqu'ici sont difficilement miniaturisables (55) et ne sont pas adaptés pour l'intégration de plusieurs chambres de détection. Ils se composent généralement de diodes électroluminescentes inorganiques (LEDs), de photodiodes avalanches, de chambres de détection macroscopiques. Bien que des systèmes intégrant jusqu'à 24 chambres de détection existent (52), la taille du système complet est de plusieurs dizaines de centimètres de largeur et de longueur, et le prix est exponentiel par rapport nombre de chambres.

De ces quatre types de détection, la mesure de l'activité enzymatique dans les membranes des phytoplanctons est la plus spécifique des méthodes de détection, car elle se limite seulement aux polluants affectant ces enzymes. Alors que la production d'oxygène, de dioxyde de carbone et la fluorescence sont deux paramètres qui donnent une indication sur l'activité de photosynthèse du phytoplancton qui est au cœur même du métabolisme des micro-algues et cyanobactéries. Ainsi, la détection de fluorescence et de variation d'oxygène donnerait une indication précise sur l'activité générale des phytoplanctons. Par analogie avec l'être humain, l'étude de la croissance cellulaire aurait pour équivalent de mesurer la mortalité de l'homme et la mesure des paramètres de l'activité photosynthétique serait la mesure de l'activité du cœur. En effet, la photosynthèse est le coeur vital des algues et

cyanobactéries. Lors d'un bilan de santé, nous mesurons la pression artérielle qui est le paramètre central de notre organisme, car il est directement lié à l'activité de notre cœur. La fluorescence et la production d'oxygène des phytoplanctons sont des paramètres précis et sensibles directement liés à l'activité photosynthétique.

Ainsi la mesure de variation d'oxygène et de fluorescence en même temps donnerait une information plus précise sur l'activité cellulaire des phytoplanctons et donc sur la toxicité des contaminants, tout en étant plus rapide que la croissance cellulaire. C'est pourquoi nous avons choisi de développer un dispositif miniature qui intégrerait ces deux techniques d'analyse. De plus, la mesure des activités cellulaires de plusieurs espèces de micro-algues et de cyanobactéries en même temps permettrait aussi de donner une information plus précise sur la qualité de l'eau. Buonasera et coll. (37) ont déjà proposé ce concept d'avoir un dispositif portable qui inclurait ces deux mesures, sans pour autant apporter de solutions technologiques sur la fabrication d'un tel dispositif. Cependant, l'intégration de plusieurs espèces de microorganismes, combinée à l'intégration des capteurs associés aux différents paramètres est un véritable défi auquel les dispositifs de type laboratoire sur puce (*lab-on-a-chip*) peuvent parfaitement y répondre.

#### 1.4 Dispositifs de type laboratoire sur puce

Les dispositifs de type laboratoire sur puce ont pour but ultime de créer de véritables laboratoires miniaturisés où toutes les étapes d'analyses et de détections nécessaires seraient intégrées sur une même plateforme microfluidique (56). Ils combinent ainsi de plusieurs domaines tels que la biologie, la chimie et les techniques de miniaturisation et de microfabrication. Ils ont déjà permis par le passé la conception de dispositifs miniatures qui répondent à un besoin de portabilité et de répétition de tests analytiques et de réduction de coût d'analyse tant dans le domaine de la santé que de l'agroalimentaire ou de l'environnement (57). Ces simples puces, le plus souvent en polymère (58), réduisent à la fois la quantité de liquide nécessaire aux analyses, et intègrent divers capteurs miniatures pour la détection. En conséquence, de grands défis se posent quant à l'intégration des différents capteurs pour les analyses que l'on voudrait effectuer.

Nous allons ainsi prouver, au cours de cette thèse, la faisabilité d'intégrer un capteur de fluorescence et un capteur d'oxygène dans une puce microfluidique pour mesurer la toxicité des phytoplanctons. Pour ce faire, nous allons intégrer dans la thèse différentes technologies que sont la microfluidique, l'électronique organique, les électrodes transparentes à base de nanomatériaux, l'informatique cognitive pour la fabrication de capteur optoélectronique et l'analyse de ses résultats. Toutes ces technologies vont nous permettre de prouver la faisabilité d'intégration de plusieurs chambres de détection sur une même puce avec les deux types de détection dans chacune des chambres.

### 1.5 Objectifs de la thèse

L'objectif principal de cette thèse était de développer un dispositif qui mesure la toxicité de l'eau. Nous voulions d'une part démontrer tout le potentiel d'intégration de plusieurs détecteurs et plusieurs microorganismes dans un même dispositif, et d'autre part démontrer qu'il est possible de fabriquer une plateforme microfluidique à base de micro-algues et de cyanobactéries qui intégrerait divers capteurs optoélectroniques. Pour ce faire, nous devons démontrer la complémentarité à la fois des différentes espèces de phytoplanctons, mais aussi de différents capteurs qui peuvent être intégrés sur la même plateforme afin de mesurer la qualité de l'eau, tout en essayant de démontrer qu'il est possible d'obtenir une certaine spécificité dans la détection à l'aide d'un traitement des données adapté. Parallèlement, nous devons développer deux types de capteurs qui peuvent mesurer des paramètres différents du métabolisme tout en étant compatible dans leur fabrication et leur intégration. Nous voulions ainsi révéler le potentiel à la fois des dispositifs organiques pour la détection de fluorescence, mais aussi le potentiel des nanofils métalliques pour les détections électrochimiques.

Cette thèse peut être résumée par les différents objectifs détaillés suivants :

- Révéler la complémentarité de ces deux techniques d'analyse, démontrer le potentiel d'intégration d'une matrice de diverses espèces de micro-algues et de cyanobactéries dans une même plateforme microfluidique et justifier la faisabilité d'avoir une matrice multidétections avec plusieurs micro-algues par la possibilité d'un traitement d'analyse logicielle adaptée.



- Concevoir un capteur intégré de fluorescence utilisant des dispositifs optoélectroniques organiques sur une puce microfluidique. Montrer le potentiel d'adaptation des différents composants du capteur de fluorescence. Démontrer le potentiel d'intégration de plusieurs capteurs de fluorescence dans sur même puce microfluidique.
- Développer un capteur miniature pour mesurer la fluorescence des micro-algues et cyanobactéries afin de détecter la toxicité de contaminant par fluorescence.
- Développer des électrodes transparentes pour la fabrication d'un capteur ampérométrique totalement transparent. Évaluer les caractéristiques physiques et électrochimiques des électrodes pour la conception de capteurs.
- Concevoir un capteur d'oxygène pour les phytoplanctons, dont l'intégration est compatible avec les capteurs de fluorescence. Mesurer la toxicité des phytoplanctons par le capteur opto-ampérométrique à base de nanofils métallique et d'OLEDs (diodes électroluminescentes organiques).

## 1.6 Méthodologie abordée

Nous avons au cours de ces travaux séparés notre étude en deux étapes distinctes, qui ont été faites en parallèle :

- D'une part, nous avons travaillé sur la preuve de concept d'utilité et de faisabilité d'un tel dispositif. Nous avons essayé de démontrer l'utilité d'intégrer à la fois plusieurs espèces et plusieurs capteurs dans un même dispositif pour mesurer la toxicité global. Ainsi, nous avons, avec des appareils commerciaux du laboratoire de biologie, démontré la complémentarité des différents capteurs que l'on veut coupler ensemble, et la complémentarité de sensibilité aux polluants des différentes espèces de phytoplanctons. Nous avons testé plusieurs espèces avec plusieurs polluants avec les appareils de fluorescence et d'oxygène commerciaux.
- D'autre part, nous avons travaillé sur la preuve de concept d'intégration des différents capteurs (fluorescence et oxygène) dans une plateforme microfluidique. Nous avons ainsi développé séparément deux capteurs distincts, l'un de fluorescence et l'autre d'oxygène. Nous voulions montrer le potentiel de chaque technologie séparément pour la détection de la toxicité de l'eau sur les phytoplanctons, tout en démontrant le potentiel pour

d'autres applications futures. Bien que fabriqués séparément, nous nous sommes attachés au développement de ces deux capteurs dans le souci de compatibilité d'intégration dans la même chambre de détection pour une intégration future.

## 1.7 Plan

Nous présenterons dans le chapitre 2 les techniques expérimentales et notamment les méthodes de fabrication qui ont été utilisées pour l'élaboration de ce travail seront décrites en détail. Dans le chapitre 3, nous démontrerons l'utilité d'une plateforme multidétecteurs et multi microorganismes en prouvant la possibilité d'analyser ces résultats et donner une réponse sur la qualité, mais aussi la spécificité des polluants présents. Nous démontrerons que les deux types de mesures sont complémentaires pour la mesure de pollution, et aussi que les différentes espèces de phytoplanctons ont des sensibilités complémentaires aux polluants.

Les chapitres suivants seront consacrés à la fabrication et l'intégration des capteurs de fluorescence et d'oxygène. En effet, le chapitre 4 montrera l'énorme potentiel qu'offrent les dispositifs optoélectroniques organiques pour la fabrication de capteur de fluorescence. Nous détaillerons les caractéristiques de chaque composant dans le chapitre 4 afin de présenter la fabrication, l'intégration et les mesures du capteur de fluorescence avec les algues vertes *Chlamydomonas reinhardtii* (CC125) dans le chapitre 5. Nous développerons ensuite dans le chapitre 6 les caractéristiques et le potentiel de détection qu'offrent les électrodes en nanofils métalliques avant de présenter la conception du capteur d'oxygène à base de nanofils et de dispositifs organiques pour mesurer la production d'oxygène des algues vertes CC125. Afin de valider la sensibilité des différents capteurs fabriqués pour l'évaluation de la toxicité de l'eau sur les phytoplanctons, les chapitres 5 et 7 présenteront aussi les tests de toxicité effectués avec un herbicide (diuron) et sur les algues CC125. Enfin, le chapitre 8 sera la conclusion générale du travail accompli où nous discuterons de la portée des résultats et présenterons les perspectives de recherches futures.





## CHAPITRE II

### TECHNIQUES EXPÉRIMENTALES

Nous verrons dans ce chapitre les différentes procédures expérimentales, les techniques de fabrication et de caractérisation utilisées tout au long de cette thèse. Nous décrirons dans un premier temps les cultures du phytoplancton et les tests de toxicité, avant de développer la fabrication de chaque composant des différents capteurs développés. Enfin, nous détaillerons les techniques de caractérisation (optiques, électriques, chimiques et électrochimiques) qui ont été utilisées et expliquerons quelles ont été les informations obtenues de celles-ci. La liste des produits chimiques utilisés se trouve dans l'annexe A.

#### 2.1 Cultures des microorganismes

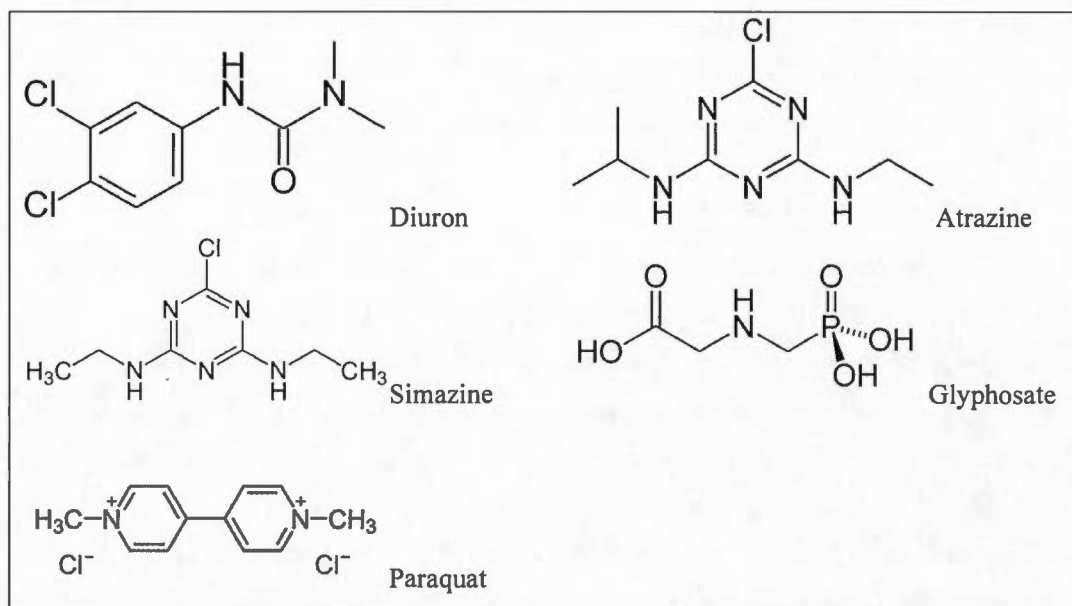
Les microorganismes ont été cultivés sous de strictes conditions de croissance afin de maintenir les mêmes conditions expérimentales au cours du temps tout en empêchant tout risque de contaminations bactériennes ou de mutations. Chaque espèce de phytoplanctons a été cultivée séparément dans leur propre milieu nutritif, dans des chambres d'incubation, qui les exposent à un cycle de lumière-obscurité (16h jour – 8h nuit) à 25°C. L'illumination du phytoplancton, produite par une combinaison de lampes néon et d'ampoules incandescentes, était d'une intensité modérée de  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Les phytoplanctons ont été périodiquement redilués dans une nouvelle solution nutritive, sous une hotte laminaire, afin de les maintenir constamment dans leur phase exponentielle de croissance. Le contrôle de la concentration des phytoplanctons dans les cultures s'est fait à l'aide d'un compteur de particules (Multisizer 3, Beckman Coulter Inc., Fullerton, USA).

Parmi les différentes espèces de phytoplanctons retrouvées en milieu naturel, nous avons choisi deux espèces de micro-algues vertes et deux souches de cyanobactéries de la

même espèce. Les deux algues vertes utilisées étaient *Chlamydomonas reinhardtii* (CC125) et *Scenedesmus obliquus* (CPCC5) et les deux cyanobactéries étaient deux espèces de la même espèce, *Microcystis aeruginosa*, dont l'une est toxique (CPCC299) et l'autre est non-toxique (CPCC632). Alors que *C. reinhardtii* a été cultivée dans du milieu HSM (High Salt Medium) (59), *S. obliquus* et *M. aeruginosa* ont été cultivés dans du milieu BBM (Bold's Basal Medium) (60), tous deux à pH = 6,8.

## 2.2 Tests de toxicité avec les micro-algues

Les polluants testés au cours de la thèse ont tous été des herbicides, leur formule chimique y est représentée sur la figure 2.1. Nous avons choisi le diuron, l'atrazine, la simazine, le paraquat et le glyphosate. Le diuron appartient à la famille des urées substituées, l'atrazine et la simazine appartiennent à la famille des triazines. Ils sont tous les trois des inhibiteurs de la photosynthèse (61). Le glyphosate est quant à lui un dérivé d'acides aminés (glycines) qui inhibe la synthèse des acides aminés aromatiques (62), dont la 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS). Enfin, le paraquat, un herbicide de type Bipyridylium, accepte les électrons au niveau du photosystème I (PSI) pour agir au niveau de la production de dérivés réactifs de l'oxygène tel que le peroxyde d'hydrogène (63).



**Figure 2.1** Formule chimique des différents polluants utilisés.

### 2.2.1 Incubation avec les polluants

Chaque test de toxicité se composait de deux étapes : une période d'incubation des polluants dans la culture de phytoplanctons testée suivit de l'étape de détection pour en déduire les paramètres de toxicité.

À chaque début de test, nous avons utilisé une culture de phytoplanctons qui se trouvait dans sa phase exponentielle. La concentration de départ de chaque test était de  $1 \times 10^6$  cell/mL, quelle que soit l'espèce de phytoplanctons utilisée. Le contrôle de leurs concentrations s'est fait avec le compteur de particules (Multisizer 3, Beckman Coulter Inc., Fullerton, USA).

Pour chaque test, la solution de polluant a été ajoutée à la culture de phytoplanctons avant de laisser incuber le mélange de 1 h à 48 h (selon le type de test), dans la chambre d'incubation avec les mêmes paramètres de croissance: intensité modérée de  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  à 25°C. Les solutions de polluant ont été initialement préparées dans leur solvant de solubilisation respectif (éthanol pour l'atrazine, diuron, simazine, eau nanopure pour le

glyphosate et paraquat). Le volume de polluant injecté a toujours été inférieur à 2 % en volume par rapport à la culture de phytoplanctons de manière à ce que le solvant n'affecte pas les mesures de fluorescence et d'oxygène sur les micro-algues.

### 2.2.2 Mesure de fluorescence

La fluorescence des phytoplanctons est un paramètre physiologique couramment utilisé pour mesurer l'efficacité photochimique du photosystème II (PSII). L'énergie absorbée par la chlorophylle et ses antennes dans le PSII est utilisée pour la photosynthèse, alors que l'excès d'énergie est retransmis soit sous forme de chaleur, soit par fluorescence. Ces trois phénomènes sont continuellement en compétition. Une augmentation du rendement d'un des trois phénomènes se traduit par une diminution des deux autres. Des informations sur l'efficacité photochimique sont donc obtenues par la mesure du rendement de fluorescence.

Les mesures de fluorescence ont été faites soit avec le dispositif microfluidique, soit avec l'appareil commercial Handy-PEA (Hansatech, King's Lynn, UK), dépendamment des tests effectués au cours de la thèse.

Pour les mesures de fluorescence avec le dispositif microfluidique, 1 mL de solution de phytoplanctons est injecté avec un pousse seringue dans la puce microfluidique. L'illumination des phytoplanctons a été effectuée par un pulse de lumière bleue avec une diode électroluminescence organique (OLED) bleue. L'intensité lumineuse des pulses était de plus de  $238 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . Le signal de fluorescence a été enregistré toutes les 1 ms. Pour l'appareil commercial Handy-PEA, 2 mL de solution de phytoplanctons ont été injectés dans le réservoir de 3 mL. Un pulse de lumière rouge de  $3\,500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  a illuminé les algues. La fluorescence émise est enregistrée toutes les 1  $\mu\text{s}$ . À partir des mesures de fluorescence du PEA, plusieurs paramètres de fluorescence ont été calculés (64), dont les formules sont regroupées dans le tableau 2.1 :

**Tableau 2.1** Différents paramètres de fluorescence calculés (64).

Paramètres	Définition	Équation
ABS/RC	Taille des antennes par centre réactionnel actif	$ABS/RC = (TR_0/RC)/(TR_0/ABS)$ $TR_0/ABS = (F_M - F_{50\mu s})/F_M$
$TR_0/RC$	Taux de trappage maximal du photosystème II	$TR_0/RC = (M_0 / V_J)$ $M_0 = 4 \times (F_{300\mu s} - F_{50\mu s}) / (F_M - F_{50\mu s})$ $V_J = (F_{2ms} - F_{50\mu s}) / (F_M - F_{50\mu s})$
$ET_0/RC$	Transport des électrons par centre réactionnel actif	$ET_0/RC = (TR_0/RC) \times (ET_0/TR_0)$ $ET_0/TR_0 = (1 - V_J)$
$DI_0/RC$	Dissipation effective par centre réactionnel actif	$DI_0/RC = (ABS/RC) - (TR_0/RC)$

$F_M$ , niveau de fluorescence maximal à l'adaptation dans le noir ;  $F_{300\mu s}$ , fluorescence à 300  $\mu s$ ;  $M_0$ , pente initiale de l'évolution de fluorescence; RC, centre de réaction;  $V_J$ , variable relative de fluorescence à l'étape-J.

Ces 4 paramètres ont été calculés en utilisant le logiciel Excel, et nous avons tracé leurs variations par rapport au témoin en pourcentage. Toutes les courbes ont fait l'objet du fitting courbe dose-réponse avec la variable de pente Hill donnée par le paramètre 'p':

$$y = A1 + (A2-A1)/(1 + 10^{((\text{LOG}x_0-x)*p)}) \quad (2.1)$$

Avec les paramètres A1, A2 et LOGx0 définis tels que:  $A1 = \min(y\_data)$ ,  $A2 = \max(y\_data)$  et  $\text{LOG}x_0 = \text{xaty50}(x\_y\_curve)$ . Nous avons de plus calculé les concentrations effectives (EC) à 20 %, 50 % et 80 % des divers polluants :

$$EC_{20} = 10^{(\text{LOG}x_0 + \log(0.25)/p)} \quad (2.2)$$

$$EC_{50} = 10^{\text{LOG}x_0} \quad (2.3)$$

$$EC_{80} = 10^{(\text{LOG}x_0 + \log(4)/p)} \quad (2.4)$$

### 2.2.3 Mesure de la production d'oxygène

L'oxygène est un produit de photosynthèse des algues et des cyanobactéries. Naturellement consommé lors du processus de respiration, il est produit par photosynthèse avec la lumière. Ainsi, les variations d'oxygène sont aussi directement liées à l'activité et l'efficacité photosynthétique des phytoplanctons. Les périodes dans le noir ont servi pour mesurer leur respiration, et les périodes sous illumination nous ont permis de déterminer leur production d'oxygène. Les mesures d'oxygène ont été faites soit avec l'appareil commercial Oxylab (Hansatech, King's Lynn, UK), soit avec capteur d'oxygène à base de nanofils.

Pour les mesures d'oxygène avec le dispositif fabriqué, 1 mL de solution de phytoplanctons est injecté avec un pousse seringue dans la puce. Des pulses de l'OLED bleue illuminent les algues à plus de  $31 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  avec des pulses de 1 min d'illumination suivis de 1 min dans le noir. Le signal de réduction d'oxygène est lu avec le potentiostat SP200 (Bio-Logic, France). Pour l'appareil commercial Oxylab, 2 mL de phytoplanctons ont été placés dans la cuvette d'analyse. Ils ont été illuminés sous une intensité de lumière de  $300 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  lors de la mesure de production d'oxygène, avec les points pris toutes les 1 ms. Typiquement, les mesures avec l'Oxylab ont été faites pendant 5 min dans le noir suivi de 5 min sous illumination. L'évaluation de la production d'oxygène a été évaluée en ajoutant le taux de production d'oxygène sous illumination au taux de respiration lue lorsque les algues étaient dans le noir.

## 2.3 Classification par réseau de neurones

Le traitement des données a été réalisé à l'aide de la méthode de réseaux de neurones artificiels (ANNs). Les ANNs peuvent être perçus comme un programme intelligent qui a besoin de données d'apprentissage pour adapter ces paramètres internes (poids, seuils) pour répondre à un problème précis. Chaque ANN s'adapte très facilement en fonction du problème (nombre de couches d'entrée, nombre de couches de sortie). Le nombre de couches cachées, le nombre de neurones, les nombres de données d'apprentissage et la méthode d'apprentissage sont autant de paramètres essentiels qu'il faut optimiser pour que le modèle mathématique obtienne de bons résultats. Les ANNs sont généralement utilisés pour les problèmes de classification, de catégorisation, de prédiction. Ainsi, ce type de modèle



pourrait très bien répondre à notre problème de détermination de la toxicité globale avec les micro-algues. À partir des réponses non spécifiques des micro-algues, le traitement de l'information obtenue par ANN donnerait une dimension plus spécifique, en permettant de donner une information sur les classes de polluants présents.

Les calculs par réseau de neurones ont été pratiqués avec le logiciel Matlab (MATLAB R2012a, Mathworks) avec le module NeuralNetwork Toolbox. Les ANNs modélisés ont été des réseaux multicouches avec une topologie comprenant une couche d'entrée, deux couches cachées et une couche de sortie. La règle d'apprentissage utilisée était la méthode par rétropropagation Levenberg-Marquardt. Le paramètre d'optimisation lors de l'apprentissage a été l'erreur quadratique moyenne.

La couche d'entrée a été composée de 16 neurones, qui représentent les 4 paramètres de fluorescence  $Et_0/RC$ ,  $ABS/RC$ ,  $Tr_0/RC$  et  $DI_0/RC$  pour les 4 phytoplanctons testés. La couche cachée comprenait 32 neurones avec comme fonction interne la fonction sigmoïde. Enfin, la couche de sortie comprenait 7 neurones qui correspond aux 7 classes de sorties (A, D, S, A+S, A+D, S+D, témoins)

Au total, 351 données d'entrées ont servi pour l'entraînement, la validation et le test du réseau modélisé. Toutes les données ont été mélangées au préalable aléatoirement. 70 % des données ont servi à l'apprentissage, 15 % à la validation et 15 % au test.

## 2.4 Fabrication des composants des capteurs optoélectroniques

### 2.4.1 Fabrication de la puce microfluidique en PDMS

La puce microfluidique a été fabriquée par la technique de lithographie douce (« soft lithography ») (65). Cette technique permet de modéliser des matériaux tels que les polymères. Les canaux microfluidiques ont ainsi été dessinés dans du polydiméthylsiloxane (PDMS), un élastomère flexible et transparent, d'après les étapes de fabrications suivantes :

#### 2.4.1.1 Fabrication du moule sur silicium :

Les motifs moulés dans le PDMS ont été dans un premier temps fabriqués par lithographie d'une résine polymère négative de type SU8 (Microchem<sup>®</sup>) sur une plaque de silicium. Voici la recette pour obtenir des canaux de 500  $\mu\text{m}$  d'épaisseur en SU8 :

10 mL de SU8-2150 ont été étalés par tournette sur une plaque de silicium 6 pouces nettoyée au piranha (acide sulfurique : peroxyde d'hydrogène 30% dans la proportion 3:1) et déshydratée à 200°C pendant 2 h. Après un recuit à 95°C pendant 12 h afin d'évaporer le solvant, la plaque est placée dans l'aligneuse (OAI Hydralign) afin d'exposer la résine non protégée par le masque de lithographie aux UV ( 800  $\text{mJ}/\text{cm}^2$ ). Les parties exposées ont été ainsi réticulées, car la résine est négative. Après un post recuit à 90°C pendant 40 min, la plaque est développée dans du SU8 développer (Microchem<sup>®</sup>) jusqu'à la complète dissolution de la partie non exposée. La lithographie du moule se termine par un recuit final à 150°C pendant 30 min afin de dénaturer la résine et améliorer sa tenue mécanique. Nous obtenons après toutes ces étapes des motifs en SU8 sur une plaque de silicium dont la taille et la forme des motifs dépendent du masque de lithographie préalablement dessiné sur un logiciel de dessin, et dont l'épaisseur dépend de la résine utilisée et de la vitesse de rotation de la tournette.

Le moule est par la suite traité au silane afin de le rendre hydrophobe pour pouvoir mieux démouler par la suite le PDMS. Pour ce faire, il est laissé 6 h à 80°C dans un pétri fermé avec 3 gouttes de tridecafluoro-1,1,2,2-tetrahydrooctyl-1-trichlorosilane (UCT Inc.).

#### 2.4.1.1 Moulage du PDMS

Le PDMS est formulé à partir d'un kit PDMS (Silgard 184, Dow Corning) en mélangeant la solution prépolymère de PDMS avec l'agent de réticulation dans la proportion 10 :1. Ce mélange est étalé sur le moule en SU8, dégazé dans un dessiccateur pour enlever les bulles d'air, et laisser réticuler toute une journée à température ambiante sur une table à niveau. L'épaisseur du PDMS est ainsi déterminée par la quantité étalée sur le moule.



#### 2.4.1.1 Démoulage du PDMS et fermeture des canaux

Le PDMS est démoulé du moule en SU8 comme l'on démoule un gâteau. Les motifs en SU8 se retrouvent ainsi incrustés dans le PDMS, nous obtenons ainsi une des deux faces des canaux microfluidiques. Afin des les refermer, plusieurs méthodes existent dans la littérature. Nous pouvons ainsi coller par plasma le PDMS sur une plaque de verre afin d'avoir des canaux PDMS-verre, ou nous pouvons le coller sur une autre plaque recouverte de PDMS (traité au plasma ou non) afin d'avoir des canaux totalement en PDMS.

Nous avons privilégié de coller la partie supérieure sur une plaque de verre recouverte de PDMS afin d'avoir un canal totalement hydrophobe PDMS-PDMS. Pour ce faire, une plaque de verre préalablement nettoyée et déshydratée sert de support mécanique. Du PDMS fraîchement préparé (à partir des 2 bases de précurseurs) y est déposé par tournette à 4000 rpm ( $\approx 20 \mu\text{m}$  d'épaisseur). Après avoir placé la lame 1 min dans un four à  $70^\circ\text{C}$  (le PDMS a commencé sa réticulation et a dégazé), la partie supérieure en PDMS y est délicatement déposée sans pression. Les deux parties en PDMS se collent automatiquement. Le tout est laissé toute la nuit à  $70^\circ\text{C}$  afin de consolider le collage. Le collage PDMS-PDMS par réticulation des 2 parties ensemble a été trouvé comme la solution la plus durable et solide.

Pour terminer, les connexions fluidiques ont été faites avec les tuyaux externes en silicone dont les extrémités ont été faites avec des bouts d'aiguilles à seringues. Chaque tuyau a été fixé par de la colle époxy, seule manière durable trouvée pour pouvoir injecter les liquides.

#### 2.4.2 Fabrication des dispositifs optoélectroniques organiques

Les OLEDs tout comme les OPDs (diodes photosensibles organiques) ont la même structure et ont en commun les mêmes étapes de fabrication. En effet, les deux composants sont constitués d'une couche de semiconducteurs organiques de quelques centaines de nanomètres prise en sandwich entre deux électrodes conductrices, dont une est transparente. L'électrode transparente a été tout au long de la thèse une électrode d'ITO (oxyde d'indium et d'étain) sur du verre de 1.1 mm commercial (Colorado Concept Coating, USA), de résistance par carré de  $15 \Omega/\square$ . Chaque composant organique se fabrique à partir de cette

électrode préalablement préparée, en y déposant successivement la couche organique et la couche supérieure métallique.

#### 2.4.2.1 Préparation des électrodes d'ITO

À partir des électrodes en ITO reçue, les motifs, qui vont constituer les électrodes pour chaque pixel, ont été fabriqués par lithographie avec la résine S1811 (annexe B). Les différents composants optoélectroniques ont été ensuite nettoyés dans les bains successifs (acétone, IPA, eau) 15 min chaque, puis déshydratés avant d'être traités au plasma. Le traitement au plasma (plasma par micro-ondes fabriqué au laboratoire) 1 min, à 150 mTorr et 70 % de puissance, nettoie et modifie chimiquement la surface de l'ITO (66).

#### 2.4.2.1 Dépôt des couches organiques et métalliques

La méthode de dépôt des matériaux organiques dépend de la nature et de la solubilité des matériaux organiques utilisés. Les OLEDs sont généralement fabriquées par évaporation sous vide de couches successives d'organiques, tandis que les OPDs peuvent plus facilement être fabriqués par dépôts par voie liquide de solutions. Les dépôts par solutions liquides offrent l'avantage de réduire les coûts de fabrication, mais se limitent aux seules molécules solubles.

Deux types d'OLED et d'OPD ont été fabriqués au cours de la thèse. Nous avons préparé des OLEDs vertes et bleues à base de petites molécules, et des OPDs à base de deux semiconducteurs polymères. Les petites molécules Alq3 (Tris(8-hydroxyquinoléine)aluminium III), NPB (N,N'-Di-[(1-naphthyl)-N,N'-diphenyl]-1,1'-biphenyl)-4,4'-diamine), BCP (Bathocuproine), DPVBi (4,4'-bis(2,2'diphenylvinyle)-1,1'-biphenyle) sont quasi-insolubles dans les solvants organiques, elles se déposent donc par évaporation dans une cloche sous vide. D'autant plus que la structure même des OLEDs fabriquées impose l'évaporation successive de plusieurs couches d'organiques. Concernant les OPDs fabriqués au cours de ces travaux, nous avons utilisé les matériaux polymères tels que le PTB3 et le P3HT qui sont deux polymères solubles dans le chlorobenzène et le dichlorobenzène. Le PCBM, entrant aussi dans la composition des OPDs, est une petite molécule soluble dans les mêmes solvants que les polymères utilisés. Les mixtures solubles PTB3+PCBM ou P3HT+PCBM qui constituent la couche organique des OPDS fabriqués ont

été déposées par tournette dans une boîte à gant. Enfin, la couche de LiF puis la couche métallique en aluminium, qui a constitué la cathode des dispositifs organiques, ont été déposées par évaporation sous vide.

Un système d'évaporation (Alcatel, France), capable d'atteindre  $2 \times 10^{-6}$  Torr a été utilisé au cours de la thèse. Le système est constitué d'une cloche en verre de 40 cm de diamètre et 60 cm de hauteur, dont le vide est fait grâce à une pompe à diffusion à huile. Il est constitué de 4 sources d'évaporation, placées de manière circulaire à 3 cm autour de l'axe central de la cloche. Chaque source d'évaporation est alimentée par une source d'intensité constante. Les matériaux organiques ont été placés dans des creusets en alumine (25 mm de diamètre, 30 mm de hauteur) et chauffés par des filaments en tungstène. Les fils d'aluminium ont été quant à eux placés directement sur un filament en spirale de 2 cm de longueur en tungstène. Les substrats en ITO ont été placés au centre de la cloche, à environ 20 cm des sources d'évaporation. Le taux d'évaporation et l'épaisseur des couches sont contrôlées par un moniteur d'épaisseur constitué d'un oscillateur de quartz (SQM-160, Sigma Instrument Inc., USA) placé à proximité des substrats. Des taux de dépôts de 1-2 Å/s ont été utilisés.

Chaque molécule organique a été utilisée sans purification supplémentaire après leur achat. Les couches constituant les OLEDs vertes à base d'Alq<sub>3</sub> ont ainsi toutes été déposées par évaporation sous vide. 50 nm de NPB, 100 nm d'Alq<sub>3</sub>, suivit de 1 nm de LiF et 100 nm d'Al ont été déposés successivement. Pour les OLEDs bleues à base de DPVBi, 50 nm de NPB, 30 nm de DPVBi, 5 nm de BCP, 35 nm d'Alq<sub>3</sub>, 1 nm de LiF et 100 nm d'Al ont été déposés. Pour les OPDs, une mixture polymère semiconducteur/PCBM a été déposée par tournette, dont l'épaisseur de la couche active est contrôlée par la vitesse de rotation. 1 nm de LiF et 100 nm d'Al ont été déposés par évaporation pour compléter les dispositifs.

#### 2.4.2.1 Encapsulation des dispositifs

Directement après l'évaporation de la cathode en aluminium, les dispositifs ont été placés dans la boîte à gant sous atmosphère contrôlée. Les dispositifs ont été ensuite encapsulés avec une plaque de verre préalablement nettoyée et déshydratée et scellés avec une colle époxy. La colle est réticulée sous UV (15W) pendant 2 h.

### 2.4.3 Fabrication des filtres optiques par absorption

Les filtres optiques préparés au cours de la thèse ont été fabriqués par dépôt par tournette d'une résine colorée visqueuse sur un support en verre (typiquement une plaque de verre de 100  $\mu\text{m}$  d'épaisseur. De manière générale, la résine colorée a été préparée par incorporation d'un colorant ou d'un pigment dans une résine. Suivant la nature de la molécule absorbante (colorant ou pigment), la nature de la résine diffère. En effet, une résine à base de gélatine de poisson, qui est toujours à l'état liquide à température ambiante, servira de matrice pour les colorants aqueux. Tandis que le PDMS, ou les résines à base de polystyrène ou autre résine polymère serviront de matrice pour les colorants organiques.

Comme cas particulier de filtre utilisé, la résine d'un complexe métallique à base de Co a directement été fabriquée par synthèse chimique. En effet, la formation du complexe  $(\text{TOMA})_2\text{CoBr}_4$  a été fabriqué par la méthode décrite dans le brevet de L.F. Warren et coll. (67) Pour ce faire, 1.15 g de  $\text{CoBr}_2$  et 9.9 g de TOMA (méthyl trioctylammonium) ont été dissouts dans 100 mL de 1-propanol pendant 45 min à reflux. Après avoir nettoyé la mixture avec du charbon activé pendant 40 min, la solution a été filtrée (filtre alumine 0,45  $\mu\text{m}$ ) et chauffée à 100°C toute la nuit pour enlever toute trace de solvant. La résine visqueuse fabriquée a ensuite été conservée en boîte à gant avant la fabrication de filtre optique avec.

### 2.4.4 Protocole de fabrication d'électrodes transparentes à base de nanofils d'argent

Bien que des solutions de nanofils d'argent soient disponibles commercialement, nous avons préféré faire la synthèse de nanofils nous même, afin de mieux contrôler les propriétés des électrodes. La fabrication d'électrodes à base de nanofils métalliques pour les mesures d'oxygène dans l'eau a été faite en 3 étapes : synthèse de nanofils d'argent, fabrication des électrodes transparentes sur verre, lithographie et fonctionnalisation. Nous allons présenter ces trois étapes dans les sections suivantes.

#### 2.4.4.1 Synthèse des nanofils d'argent

Les nanofils d'argent ont été synthétisés d'après la méthode développée par Xia et coll. (68) Les réactifs  $\text{CuCl}_2$  (chlorure de cuivre II), PVP (poly vinylpyrrolidone) 40 000 Mw, et  $\text{AgNO}_3$  (nitrate d'argent) ont été préalablement préparés dans de l'éthylène

glycol avec des concentrations respectives de 4 mM, 147 mM (par rapport à la masse molaire du monomère) et 94 mM. Dans un ballon de 250 mL, 50 mL d'éthylène glycol est préalablement chauffé à 170°C pendant 1h sous agitation continue (300 rpm). 400  $\mu$ L de  $\text{CuCl}_2$  sont ensuite ajoutés à la solution., 15 min après 15 mL de PVP est ajouté en une fois. Après 5 min, le temps que la solution revienne à température de la pièce, 15 mL d' $\text{AgNO}_3$  sont ajoutés en continu à l'aide d'un pousse seringue à 0,2 mL/min les 5 premières minutes et à 0,5 mL/min par la suite. La solution commence à s'épaissir à partir de 55 min et les premiers nuages de nanofils apparaissent à 1h15. La réaction est stoppée à 1h20 de réaction en trempant le ballon dans un cristalliseur d'eau froide.

À ce stade, la solution de 80 mL au total est gris clair avec un semblant d'effet miroir. La solution est ensuite nettoyée dans 900 mL d'acétone dans un bécher de 1 L. Le précipité gris-noir qui s'est déposé dans le fond y est retiré, enlevant ainsi la solution d'acétone jaune clair. Les nanofils ont été ensuite nettoyés 3 fois à l'eau en les redispersant et les centrifugeant, suivie de 2 fois à l'IPA (alcool isopropylique) pour retirer toute trace d'eau. Une fois nettoyés, les nanofils ont été redispersés et conservés dans de l'IPA jusqu'à leur utilisation.

#### 2.4.4.1 Fabrication par méthode de filtration

La grande taille des nanofils synthétisés, entre 10  $\mu$ m et 150  $\mu$ m les empêchent d'être imprimés par des techniques de jet d'encre et de vaporisateur. C'est pourquoi nous avons opté pour une technique d'impression en 2 temps : filtration des nanofils sur un filtre en cellulose pour former une électrode transparente poreuse grâce à la percolation des fils entre eux, suivit du transfert de cette électrode par contact sur une plaque de verre fonctionnalisée.

Une plaque de verre est préalablement nettoyée chimiquement (10 min dans des bains d'acétone, IPA, eau aux ultra-sons) et physiquement au plasma (5 min, 300 W, 0,1 mBar, PICO), avant d'être plongée dans une solution de silane (3-mercaptopropyltriméthoxysilane), eau, IPA dans les proportions 1 : 1 : 98) à 80°C pendant 30 min. Après être rincée dans de l'IPA, la plaque est déshydratée à 105°C jusqu'à son utilisation. La fonctionnarisation du verre n'a aucune influence sur le transfert des nanofils sur celle-ci, mais elle offre une

meilleure tenue mécanique pour les prochaines étapes de fabrication grâce à la fonction thiol qui se lie à l'argent.

Une petite quantité de nanofils (inférieure à 1 mL) dispersés dans l'IPA est mélangée dans 200 mL d'eau puis filtrée sur un filtre en cellulose 1.1  $\mu\text{m}$  (Wathman). Dans une salle à 17-21°C et une humidité de 30-40 %, les nanofils ont été laissés 20-30 min à l'air sur les filtres avant d'être pressés pendant 30 s sur la plaque de verre silanisée à 105°C. Le transfert sur la plaque de verre dépend essentiellement de 3 paramètres : température, humidité du filtre et vitesse de décollement du filtre. La pression des nanofils sur la plaque de verre n'est pas un paramètre critique pour leur transfert, une simple pression manuelle suffit pour se faire. Cependant, une plus grande pression permet à plus de nanofils d'être en contact avec la plaque, améliorant ainsi la tenue mécanique du transfert. Tous les nanofils restent automatiquement sur la plaque de verre lorsque l'on enlève rapidement le filtre en cellulose. Les électrodes en nanofils, transférées sur la plaque de verre, ont été nettoyées 15 min à l'acétone pour enlever tout résidu de cellulose, suivit de 15 min dans de l'IPA. Les plaques ont été ensuite recuites à 300°C pendant 30 min.

#### 2.4.4.1 Lithographie et fonctionnalisation des nanofils

À partir de ces électrodes, plusieurs motifs ont été fabriqués par lithographie avec la résine positive S1811 (annexe B). Dépendamment des propriétés électrochimiques souhaitées, nous avons fonctionnalisé les électrodes d'argent par une couche de platine, afin de recouvrir les nanofils tout en gardant la transparence et la conductivité des électrodes. Pour la fonctionnalisation, une solution de 1 mM d'acide chloroplatinique ( $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) avec 100 mM de perchlorate de sodium comme électrolyte support a été préparée et servi de solution d'électrodéposition. Puisque les électrodes d'argent ne sont pas stables dans le sel de platine, du fait du déplacement galvanométrique, nous avons imposé un potentiel constant directement après l'immersion de l'électrode. Le platine s'est déposé en imposant un potentiel de -0,35 V vs Ag/AgCl (3 M). Au final, des dépôts de 0,33 mC/cm<sup>2</sup> à 15,5 mC/mm<sup>2</sup> ont été faits. Les électrodes ont été lavées à l'eau distillée juste après chaque dépôt.

#### 2.4.4.1 Contact des électrodes en nanofils

La faible épaisseur des électrodes en nanofils obtenue (de l'ordre de 100-200 nm) associée à la faible tenue mécanique des nanofils d'argent sur les substrats en verre empêche d'avoir un bon contact électrique qui est mécaniquement viable au cours du temps. Les zones de contact électrique des électrodes ont donc été renforcées par de la laque d'argent, déposée par-dessus les nanofils d'argent.

### 2.5 Caractérisations optiques

#### 2.5.1 Absorption-transmittance UV-Visible

Les transparences des électrodes en nanofils fabriquées ont été mesurées à l'aide d'un appareil de spectroscopie UV-Visible Cary 300 (Agilent Technologies, USA) entre 300 et 900 nm, auxquelles l'absorbance des supports en verre ont été soustraits.

#### 2.5.2 Caractéristique spectrale d'émission des OLEDs

Chaque OLED a son spectre d'émission qui est caractéristique de sa structure et des matériaux organiques. Les caractéristiques spectrales d'émission des OLED ont été mesurées avec un spectromètre USB2000 (Ocean Optics, Dunedin, USA) à fibre optique, dont le spectre de sensibilité est entre 200 nm - 1 100 nm. La mesure par le spectromètre USB2000 nous permet de visualiser la distribution d'émission de photon des OLEDs en fonction des longueurs d'onde. La fibre optique a été placée directement sur le dessus des OLEDs en fonctionnement afin de recueillir et d'analyser le spectre d'émission des photons. Chaque mesure prise n'a fait l'objet d'aucune calibration d'intensité spectrale, seule la distribution des photons en fonction de leur longueur d'onde a été utilisée.

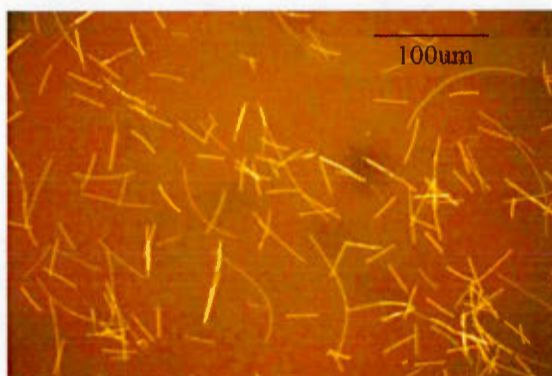
#### 2.5.3 Imagerie des dispositifs et des électrodes en nanofils

Nous avons pu visualiser et caractériser nos électrodes à l'aide d'appareils avec des résolutions allant du micromètre (microscopie optique) au nanomètre (imagerie AFM).

Le contrôle de chaque étape de lithographie et des dispositifs (moule pour la puce microfluidique, lithographie de l'ITO, des nanofils, ...) lors de leur fabrication se sont faits par microscopie optique (Nikon, Eclipse LV125, USA). Les grossissements de 100 à 500x



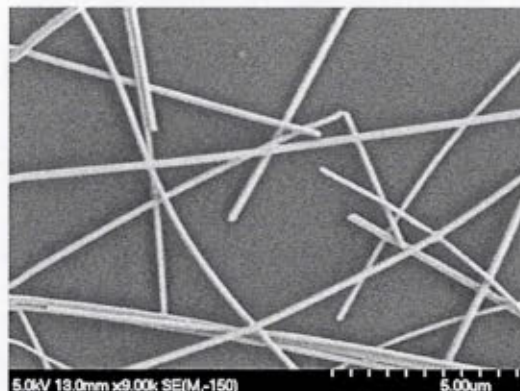
ont suffi pour voir les motifs des électrodes dont la taille est de l'ordre du millimètre. Les nanofils d'argent, d'une taille de l'ordre de 10-100  $\mu\text{m}$  et de diamètre de 100 nm environ ont pu aussi se voir par microscopie optique. La figure 2.2 est une photo de nanofils d'argent prise avec le microscope optique avec un grossissement de 500x. Nous distinguons bien les nanofils, grâce à leur réflexion de la lumière. Nous pouvons ainsi à partir de ces images caractériser leur longueur.



**Figure 2.2** Photo de nanofils d'argent au microscope optique (x500)

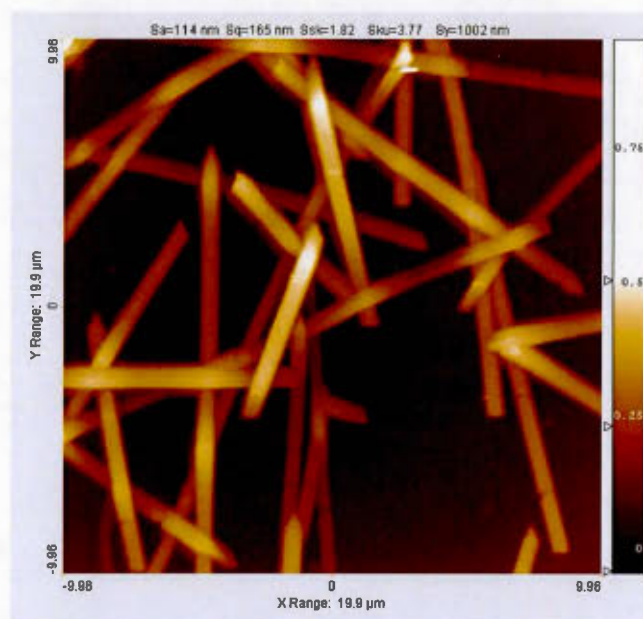
Afin de mieux visualiser les électrodes en nanofils d'argent, nous avons utilisé la microscopie électronique à balayage (MEB). Nous avons utilisé le MEB Hitachi S-4700 pour l'imagerie des nanofils. Des tensions d'accélération de 0,5 à 5 keV, avec le mode haute résolution, ont été utilisées. Nous nous sommes limités à des courants de 10  $\mu\text{A}$  pour limiter les effets de charge, notamment pour les nanofils recouverts de platine. L'image obtenue s'est faite avec un détecteur d'électrons secondaires. Le contraste est bien visible entre les nanofils conducteurs et le substrat en verre (isolant électrique). L'imagerie MEB des électrodes en nanofils (figure 2.3) nous a permis d'une part de visualiser la taille, le diamètre de nanofils de manière plus précise. Nous avons pu caractériser l'homogénéité du dépôt de platine sur les nanofils. Enfin, le MEB nous a permis d'analyser la distribution des trous entre chaque nanofil.





**Figure 2.3** Imagerie MEB de nanofils d'argent

L'imagerie par microscopie à force atomique (AFM) a été faite afin de visualiser la rugosité des électrodes fabriquées (figure 2.4). Elle nous donne aussi une indication sur le diamètre des nanofils. Pour une caractérisation sur de plus grandes distances, nous avons utilisé le profilomètre mécanique. Une rugosité d'environ 100 nm a ainsi été observée par les deux méthodes.



**Figure 2.4** Imagerie AFM de nanofils d'argent

## 2.6 Caractérisations électriques

### 2.6.1 Conductivité des électrodes

Les résistances de feuille des électrodes en nanofils ont été mesurées avec une station quatre-pointes (Lucas Labs 302), couplée à un multimètre (Keithley 2000) et une source de courant (Keithley 6220). Cette mesure nous a permis de déterminer la résistance par carré de nos couches minces en nanofils d'argent.

### 2.6.2 Temps de réaction

Le temps de réaction des OPDs à base de PTB3 a été mesuré avec un oscilloscope digital (Gw Instek GDS-840C, Taiwan) et une diode LED (660 nm, LN289CUQ, Panasonic) alimentée par un générateur de pulse (Agilent N1913A, USA) sous des fréquences de 1 kHz à 5 MHz. La tension aux bornes d'une résistance 10 k $\Omega$  et de l'OPD en série a été mesurée lors de la photoactivation de l'OPD par la diode laser. Ces mesures nous ont servis pour déterminer la fréquence de coupure de notre OPD.

### 2.6.3 Caractéristiques luminance-intensité-potentiel (LIV) des OLEDs

La luminance (en Cd/m<sup>2</sup>) des OLEDs en fonction de la tension appliquée a été mesurée à l'aide d'une luminance mètre (Delta Ohm LP 471 LUM 2, Italie) et du Keithley 2400 (Keithley instruments inc. USA). L'intensité lumineuse des OLEDs s'est faite par des balayages linéaires de tension (typiquement entre 0 V et 10-20 V). Cette mesure nous donne l'intensité d'une OLED en fonction de sa tension de fonctionnement. Nous avons ainsi déterminé la tension de seuil des OLEDs (tension à partir de laquelle il y a émission de photons) puis mesuré l'intensité lumineuse maximale des OLEDs avant sa tension de claquage.

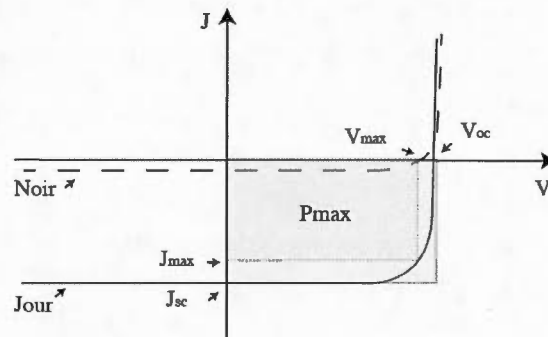
### 2.6.4 Caractéristique I-V (intensité-potentiel) des OPDs

Les caractéristiques I-V des OPDs ont été mesurées avec les Keithley 2601a et 2400 (Keithley instruments Inc. USA). L'intensité générée en fonction de la tension appliquée aux bornes des OPDs a été mesurée dans le noir et sous intensité lumineuse constante. Typiquement, une intensité de 100 mW/cm<sup>2</sup> d'une lampe au tungstène sous un filtre AM

1.5G a été utilisée lors de la caractérisation comme simulation du spectre solaire. À partir des courbes IV, nous pouvons extraire plusieurs caractéristiques des dispositifs (figure 2.5) :

- Courant de court-circuit  $I_{sc}$  : courant mesuré quand la tension appliquée est nulle. Pour la suite, on s'intéressera davantage à la densité de courant de court-circuit  $J_{sc}$ , en tenant compte de la surface de chaque cellule lors des mesures.
- Tension de circuit ouvert  $V_{oc}$  : tension annulant le courant dans la cellule
- Facteur de forme  $FF$  : où  $FF = \frac{V_{max} \times J_{max}}{V_{oc} \times J_{sc}}$  (2.5)
- Rendement de conversion  $\eta$  :  $\eta = \frac{P_{max}}{P_{in}} = \frac{J_{sc} \times V_{oc} \times FF}{P_{in}}$  (2.6)

Où  $P_{in}$  est la puissance lumineuse incidente et  $P_{max}$  la puissance maximale extraite.



**Figure 2.5** schéma de calcul des paramètres d'une diode photovoltaïque

De plus, nous pouvons aussi mesurer les paramètres suivants :

- Courant dans le noir : courant mesuré sans aucune illumination
- Rapport jour/noir : rapport entre le courant mesuré sous une illumination donnée à une tension donnée et le courant mesuré sans aucune illumination à la même tension

### 2.6.5 Mesure de l'EQE (efficacité quantique externe)

L'EQE correspond à l'efficacité de conversion de photons incidents en électrons par la photodiode, elle se définit comme suit :

$$EQE = \frac{\text{nombre d'électrons circulant dans le circuit externe}}{\text{Nombre de photons incidents}} \quad (2.7)$$

$$EQE = 1241 \times \frac{I}{P_{diode} \times \lambda} \times 100 \quad (2.8)$$

Avec  $I$  qui représente le courant généré de l'OPD (moins le courant dans le noir),  $P_{diode}$  (mW/cm<sup>2</sup>) la puissance de la diode incidente et  $\lambda$  (nm) la longueur d'onde. Pour mesurer l'EQE, nous avons mesuré le courant généré par l'OPD en fonction des longueurs d'onde, dont l'intensité incidente a préalablement été calibrée par une diode Si de caractéristiques spectrales préalablement connues.

## 2.7 Caractérisations chimiques

En complément des analyses électrochimiques que nous décrirons à la section suivant, nous avons caractérisé nos électrodes par EDS et XPS.

### 2.7.1 Spectroscopie de fluorescence X à sélection d'énergie (EDS)

Le MEB Hitachi S-4700 est aussi équipé d'un spectromètre à rayon X à sélection d'énergie. Nous avons ainsi utilisé le même appareil pour effectuer des analyses chimiques par EDS. Avec le détecteur d'électrons rétrodiffusés, nous avons analysé chimiquement nos électrodes en nanofils. La spectroscopie EDS nous a donné la composition chimique (nature des éléments présents) des électrodes. Les énergies des électrons incidents ont été de 2 à 3 fois supérieures aux raies X des éléments caractérisés (Pt et Ag en l'occurrence). Bien qu'il soit possible d'effectuer des mesures quantitatives, nous nous sommes limités à l'analyse qualitative des échantillons (identification des éléments présents).

### 2.7.2 Spectrométrie photoélectronique X (XPS)

L'XPS a été faite par le laboratoire d'imagerie de surface (LIS, Université Laval) avec l'appareil PHI 5600-ci (Physical Electronics, Eden Prairie, USA). Les analyses ont été effectuées à un angle de  $45^\circ$  par rapport à la surface. L'ouverture du détecteur était à 5 et la surface analysée est de 0.8 mm x 2 mm. La mesure XPS a permis de déterminer la présence des différents atomes sur les électrodes en nanofils après les différents tests : dépôt de platine, oxydation des électrodes en nanofils dans un sel de KCl. Elle a confirmé la présence de platine sur les nanofils recouverts de platine après le dépôt électrochimique, en plus de confirmer la formation de KCl lors de l'oxydation des électrodes de nanofils dans un sel de chlorure.

Enfin, elle nous a permis d'évaluer la présence et la nature des électrodes fabriquées à partir de nanofils d'argent, recouvert ou non de platine. L'XPS confirmera la présence d'atome de chlore (Cl) à la surface des électrodes en nanofils d'argent recouvert de platine.

## 2.8 Caractérisations électrochimiques

Les caractéristiques électrochimiques des électrodes en nanofils, recouvertes ou non de platine, dans diverses solutions liquides ont été pratiqué avec les potentiostats SP-200 (BioLogic inc. France) ou Solartron 1470 (Solartron Analytical, UK). Les électrodes Ag/AgCl (3 M) et au calomel ont servi d'électrode de référence. Enfin, un fil de platine a servi de contre électrode lors des différents tests.

Parmi toutes les options de caractérisation électrochimique que l'on peut pratiquer avec un potentiostat, nous nous sommes limités à la voltampérométrie cyclique des électrodes pour déterminer les réactions possibles aux électrodes, l'air spécifique des électrodes, et aux tests de stabilité des électrodes de référence à circuit ouvert :

### 2.8.1 Voltammétrie cyclique

La voltammétrie cyclique des électrodes en nanofils d'argent (recouvertes ou non de platine) a permis de déterminer quelles sont les réactions électrochimiques qui se produisent à la surface des électrodes dans les divers milieux utilisés. Elle nous a permis aussi de

comparer l'efficacité de réduction de l'oxygène des électrodes testées. Enfin, nous avons pu déterminer par voltammétrie cyclique l'aire effective des électrodes fabriquées.

En effet, sous des conditions de diffusion linéaire semi-infinie, le pic de courant est proportionnel à la vitesse de balayage suivant l'équation Randles-Sevcik (à 25°C):

$$I_p = 2.69 \times 10^7 \times n^{\frac{3}{2}} \times A \times D^{\frac{1}{2}} \times C \times v^{\frac{1}{2}} \quad (2.9)$$

Où  $n$  est le nombre d'électron,  $A$  l'aire effective de l'électrode,  $D$  le coefficient de diffusion,  $v$  la vitesse de balayage et  $C$  la concentration du couple rédox. Ainsi, pour calculer l'aire effective des électrodes en argent, nous avons fait des balayages cycliques entre -0,1 V et -0.7 V par rapport à Ag/AgCl (3 M) dans une solution d'acétonitrile avec le parabenzoquinone et le sel tetrabutylammonium perchlorate (TEAP). En traçant le pic de courant en fonction de la vitesse de balayage, nous en déduisons l'aire effective des électrodes.

#### 2.8.2 Stabilité à circuit ouvert

Les tests de stabilité des électrodes de référence ont été faits en enregistrant la tension à circuit ouvert de l'électrode testée par rapport à une électrode de référence Ag/AgCl (3 M) au cours du temps.

## CHAPITRE III

### PLATEFORME MULTI-DÉTECTIONS À BASE DE PHYTOPLANCTONS: PREUVE DE CONCEPT ET POTENTIEL

#### 3.1 Introduction

Les tests de toxicité avec des organismes vivants permettent de donner une information sur la toxicité globale des contaminants. Cependant, plusieurs limites existent quant à la portée des résultats. Les tests de toxicité sont moins sensibles que les analyses chimiques. Ils donnent une information incomplète sur la nature de la pollution (problème d'identification de la source de pollution). Le coût et les contraintes liées à la logistique et le temps des mesures de toxicité sont les principales sources de limitation aux tests de toxicité, limitant ainsi la portée de leur potentiel d'analyse.

Nous proposons par notre concept de plateforme multiespèces d'inclure plusieurs espèces de microorganismes de sensibilités différentes. Nous pourrions ainsi, tout en limitant les coûts, avoir une analyse plus sensible, et aussi plus représentative. Les phytoplanctons sont des capteurs naturels non spécifiques, ils sont sensibles à tout. Mesurer la toxicité des phytoplanctons est donc une mesure qualitative (31). Pourtant, les biologistes ont communément observé des différences de sensibilités des phytoplanctons en fonction des différents polluants auxquels ils ont été exposés (38, 69, 70). Ces différences de sensibilité peuvent être attribuées aux caractéristiques physiologiques et morphologiques propres à chaque espèce. Podola et coll. (39, 71) ont été les seuls à utiliser cette complémentarité de sensibilité pour améliorer la spécificité d'un dispositif de mesure de toxicité avec différentes espèces de phytoplanctons. Cependant, leurs études se sont limitées à la détection d'un polluant seul, et non aux mélanges de polluant que l'on retrouve dans la vraie vie.



Nous avons vu dans l'introduction les différents types de capteurs développés pour mesurer la toxicité de contaminants avec les phytoplanctons. Les capteurs de fluorescence ont ainsi toujours montré une meilleure sensibilité par rapport aux capteurs de  $\text{CO}_2$  et d' $\text{O}_2$ . Pourtant, nous allons montrer dans ce chapitre, avec l'exemple du glyphosate, que les mesures d' $\text{O}_2$  peuvent être une mesure plus sensible que la fluorescence. Nous allons ainsi dans ce chapitre démontrer la complémentarité de la mesure de fluorescence et d'oxygène, qui seront les deux types d'analyse que l'on intégrera dans les chapitres suivants.

Enfin, l'utilisation d'un tel dispositif ne pourrait se faire sans un traitement de données capable de traiter la complexité des réponses non linéaires de chaque espèce de phytoplanctons. Une méthode dont le modèle est basé sur la reconnaissance artificielle, telle que les réseaux de neurones, répondrait parfaitement à la problématique rencontrée. La haute non-linéarité des réponses des différentes de phytoplanctons aux polluants ne permettant pas d'utiliser des algorithmes conventionnels, le modèle des réseaux de neurones s'avère donc apporter une solution adéquate. Podola et coll. (72) ont auparavant utilisé la programmation génétique, et l'ont appliqué sur des polluants seuls. L'utilisation d'une approche par réseau de neurones artificiels a été optée afin de modéliser la reconnaissance des capteurs, et permettre la reconnaissance de mélange de polluants. Les réseaux de neurones ont déjà été utilisés pour la reconnaissance de mélange de polluants (73, 74). Nous montrerons ainsi qu'il est possible d'apporter une certaine spécificité à la détection de contaminant avec les algues et cyanobactéries, permettant ainsi d'orienter les technologies de traitement de l'eau en cas de pollution.

Après avoir décrit les principes de mesure de fluorescence, de mesure d'oxygène et le principe des réseaux de neurones, nous commencerons dans un premier temps par démontrer la complémentarité des mesures d'oxygène et de fluorescence, avant de montrer la complémentarité de sensibilité des différents phytoplanctons. Nous terminerons ce chapitre par les résultats de reconnaissance par réseaux de neurones qui prouveront que la combinaison de plusieurs espèces de phytoplanctons dans un même dispositif apporterait une sélectivité aux résultats pour la détection de mélange de polluants.



### 3.2 Principe de la détection de la toxicité des micro-algues par fluorescence et par oxygène

La fluorescence et les variations de concentrations en oxygène produit et consommé sont deux paramètres relatifs à l'activité photosynthétique des phytoplanctons. Lorsqu'un polluant chimique agit directement sur le complexe photosynthétique, son action se répercute directement par des variations de la production d'oxygène et d'émission de fluorescence. Ainsi, ces deux paramètres nous permettent de mesurer directement la toxicité d'un polluant sur les microorganismes.

La fluorescence des phytoplanctons est un paramètre physiologique couramment utilisé pour mesurer l'efficacité photochimique du photosystème II (PSII) (75). L'énergie absorbée par la chlorophylle et ses antennes dans le PSII est utilisée pour la photosynthèse, alors que l'excès d'énergie est retransmis soit sous forme de chaleur, soit par fluorescence. Ces trois phénomènes sont continuellement en compétition. Une augmentation du rendement d'un des trois phénomènes se traduit par une diminution des deux autres. Des informations sur l'efficacité photochimique sont donc obtenues par la mesure du rendement de fluorescence.

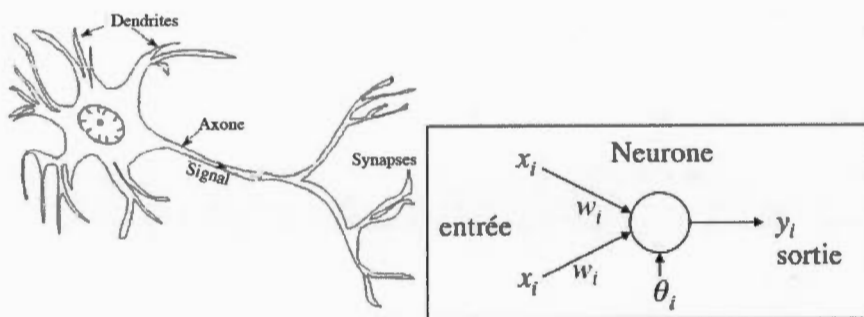
L'oxygène est un produit de photosynthèse des phytoplanctons. Naturellement consommé lors du processus de respiration, il est produit par photosynthèse avec la lumière. Ainsi, les variations de la production d'oxygène sont aussi directement liées à l'activité et l'efficacité photosynthétique des espèces de phytoplanctons.

Les herbicides, comme le diuron, l'atrazine ou la simazine agissent au niveau du PSII en bloquant le transfert d'électron dans le processus de photosynthèse (76). Ils sont ainsi des herbicides qui bloquent la photosynthèse des phytoplanctons. Les mesures de fluorescence et d'oxygène des phytoplanctons permettront de mesurer directement la présence et la toxicité du diuron. Le glyphosate est quant à lui un inhibiteur de synthèse d'acide aminé (62), il n'agit donc pas directement au niveau de la photosynthèse, mais devrait, comme tous les polluants affecter indirectement l'activité photosynthétique et donc devrait se voir aussi par fluorescence et par dégagement d'oxygène. Enfin, le paraquat accepte les électrons au niveau

du PSI pour agir au niveau de la production de dérivés réactifs de l'oxygène tel que le peroxyde d'hydrogène (63).

### 3.3 Principe des réseaux de neurones artificiels (77)

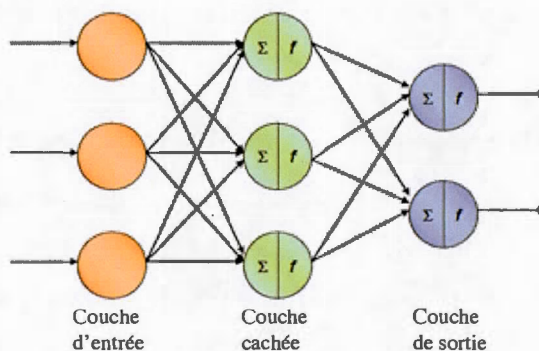
Un réseau de neurones artificiel est un modèle mathématique dont la structure est copiée des neurones biologiques. Ce modèle de calcul est une des composantes majeures du domaine de l'intelligence artificielle. Les réseaux de neurones du modèle mathématique sont composés de neurones artificiels (neurone formel ou neurone logique), qui sont des fonctions mathématiques simples (linéaire, sigmoïde, etc.) dont leur agencement et leur combinaison entre elles forment des fonctions complexes qui peuvent être très utiles pour le traitement de problèmes complexes. Chaque neurone artificiel, puisqu'il est inspiré des neurones biologiques, a pour ses composants son équivalent biologique. Nous avons représenté cette analogie sur la figure 3.1. Les entrées  $x_i$  correspondent aux dendrites, les poids  $w_i$  des entrées correspondent aux synapses et enfin la sortie  $y_i$  correspond à l'axone.



**Figure 3.1** Comparaison schématique entre un neurone biologique et artificiel (adapté de (77)).

Un réseau de neurones est donc un ensemble de neurones artificiels qui s'apparente à une fonction qui traite des données entrantes (entrée) pour produire une réponse (sortie). Les entrées et sorties peuvent être binaires ou numériques. L'architecture générale des réseaux de neurones se représente par couche de plusieurs neurones, avec une couche d'entrée, une ou plusieurs couches cachées et une couche de sortie.

Le modèle le plus connu des ANNs (réseaux de neurones artificiels) est le perceptron multicouche, composée de 1 ou 2 couches cachées de neurones. La figure 3.2 représente la structure d'un ANN multicouche. Chaque neurone a sa fonction de transfert; le poids des entrées et les seuils  $\theta_i$  sont optimisés par l'algorithme d'apprentissage. Cet algorithme minimise par exemple l'erreur quadratique moyenne lors de l'entraînement du réseau.



**Figure 3.2** Schéma de la structure d'un ANN multicouches (adapté de (74)).

Ainsi, les réseaux de neurones artificiels peuvent être perçus comme un programme intelligent qui a besoin de données d'apprentissage pour adapter ces paramètres internes (poids, seuils) pour répondre à un problème précis. Chaque ANN s'adapte très facilement en fonction du problème (nombre de couche d'entrée, de couche de sortie). Le nombre de couches cachées, le nombre de neurones, les nombres de données d'apprentissage et la méthode d'apprentissage sont autant de paramètres essentiels qu'il faut optimiser pour que le modèle mathématique obtienne de bons résultats.

Les ANNs sont généralement utilisées pour les problèmes de classification, de catégorisation, de prédiction (78-83). Ainsi, ce type de modèle pourrait très bien répondre à notre problème de détermination de la toxicité globale avec les phytoplanctons. À partir des réponses non spécifiques des phytoplanctons, le traitement de l'information obtenue par ANN donnerait une dimension plus spécifique, en permettant de donner une information sur les classes de polluants présents.

### 3.4 Méthode expérimentale

Quatre espèces de phytoplanctons (*C. reinhardtii* et *S. obliquus*, *M. aeruginosa* CCPC299 et *M. aeruginosa* CCPC632) ont servi pour les tests de toxicités présentés dans ce chapitre. Toutes ces espèces ont été cultivées et maintenues dans leur phase de croissance exponentielle comme décrite dans le chapitre 2. Les appareils commerciaux Handy-PEA et Oxylab (Hansatech, King's Lynn, UK) ont servi pour les mesures de fluorescence et d'oxygène. Pour les mesures de fluorescence, les phytoplanctons ont été placés 15 min dans le noir avant les mesures.

#### 3.4.1 Test de complémentarité des mesures d'oxygène et de fluorescence

Une culture de CCPC299 a servi aux tests de complémentarité des deux types d'analyse. Ainsi, une culture de cyanobactéries CCPC299 à  $5 \times 10^5$  cell/mL, à laquelle on a ajouté 2 % en volume de polluant (atrazine ou glyphosate) de concentration croissante, a été laissé pendant 24 h sous une lumière de  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  à 25°C. Les mesures de fluorescence et d'oxygène ont été faites au bout des 24 h d'incubation. Les phytoplanctons ont été concentrés à  $5 \times 10^6$  cell/mL au préalable de la mesure d'oxygène. Les mesures ont toutes été faites en triplicata.

#### 3.4.2 Test de complémentarité des espèces de phytoplanctons

Chaque culture de phytoplanctons (CCPC299, CCPC632, CCPC5 et CC125), de concentration  $1 \times 10^6$  cell/mL a été exposée pendant 30 min sous une lumière de  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  à 25°C au polluant atrazine, simazine, diuron et paraquat de concentration croissante (0,05; 1; 10; 25; 50; 100; 250; 500; 1000 nM). Les mesures de fluorescence ont été faites directement après les 30 min d'incubation, suivi des 15 min de conditionnement au noir. Les mesures ont toutes été faites en triplicata.

#### 3.4.3 Test du réseau de neurones

En plus des données de fluorescence des tests précédents pour les polluants seuls (A, D, S), nous avons mesuré la toxicité par fluorescence de mélanges binaires (A+D, A+S, S+A). Tous ces tests ont aussi été faits en triplicata. Le tableau 3.1 résume ainsi toutes les concentrations de polluants testés avec les 4 phytoplanctons. Les paramètres calculés à partir

de ces mesures de fluorescence de ce tableau correspondent aux données d'entrées du réseau de neurones.

**Tableau 3.1** Concentrations de polluant testées pour l'ANN.

<b>Polluant seul</b>	10 nM	25 nM	50 nM	100 nM	250 nM	500 nM	1000 nM
<b>Mélange de polluants</b>	10 nM	25 nM	50 nM	100 nM		500 nM	

Les calculs par réseau de neurones ont été faits avec le logiciel Matlab (MATLAB R2012a, Mathworks) avec le module NeuralNetwork Toolbox. Les ANNs modélisées ont été des réseaux multicouches avec une topologie comprenant une couche d'entrée, deux couches cachées et une couche de sortie. La règle d'apprentissage utilisée était la méthode par rétropropagation Levenberg-Marquardt (84, 85). Le paramètre d'optimisation lors de l'apprentissage a été l'erreur quadratique moyenne.

La couche d'entrée a été composée de 16 neurones, qui représentent les 4 paramètres de fluorescence  $E_t/RC$  (Taille des antennes par centre réactionnel actif),  $ABS/RC$  (Taux de trappage maximal du photosystème II),  $Tr_0/RC$  (Transport des électrons par centre réactionnel actif) et  $DI_0/RC$  (Dissipation effective par centre réactionnel actif) pour les 4 phytoplanctons testés. La couche cachée comprenait 32 neurones avec comme fonction interne la fonction sigmoïdale logistique (logsig, fonction bornée à valeurs réelles comprises entre 0 et 1). Enfin, la couche de sortie comprenait 7 neurones qui correspondent aux 7 classes de sorties (tableau 3.2).

**Tableau 3.2** Classes de sorties de l'ANN.

<b>Numéro de la classe</b>	<b>Signification de la classe</b>
1	A
2	D
3	S
4	A+D
5	A+S
6	D+S
7	témoin

Au total, 351 données d'entrées ont servi pour l'entraînement, la validation et le test du réseau modélisé. Toutes les données ont été mélangées au préalable aléatoirement. 70 % des données ont servi à l'apprentissage, 15 % à la validation et 15 % au test.

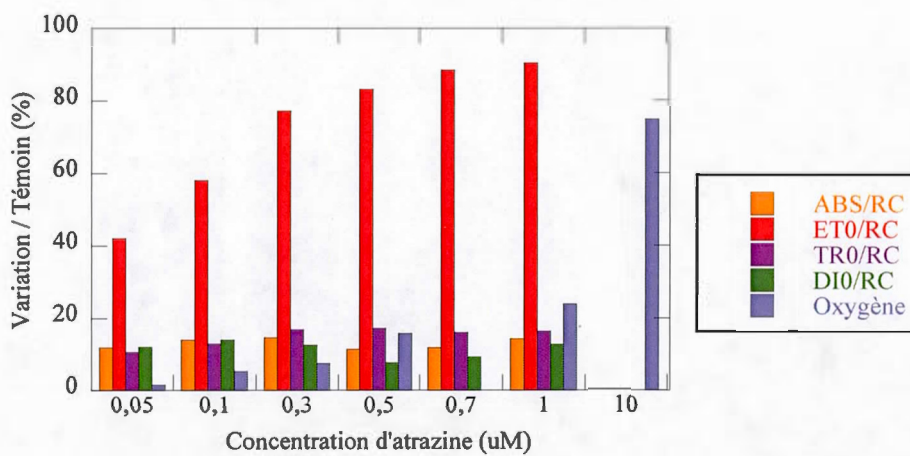
À la fin de l'apprentissage, nous avons extrait la matrice de confusion de classification. Cette matrice a servi à visualiser la qualité de classification du réseau. Chaque colonne représente le nombre d'événements d'une classe obtenue, alors que chaque ligne représente le nombre d'événements d'une classe ciblée.

### 3.5 Complémentarité des mesures d'oxygène et de fluorescence

#### 3.5.1 Résultats

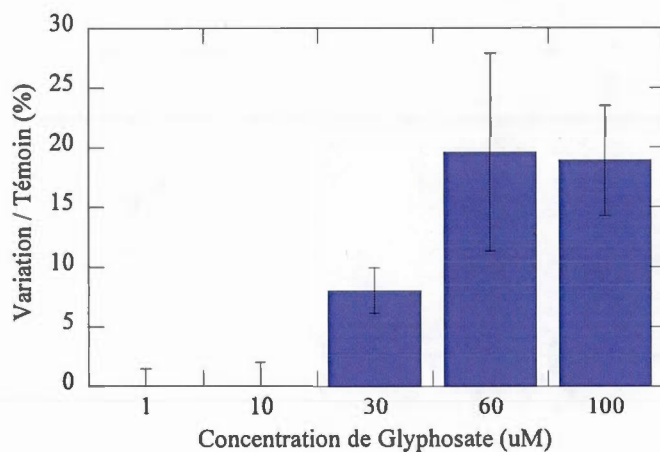
La figure 3.3 montre les variations de la production d'oxygène et les quatre paramètres de fluorescence par rapport au témoin, en fonction de concentrations croissantes pour l'atrazine (allant de 0,05  $\mu\text{M}$  à 10  $\mu\text{M}$ ) au bout de 24 h d'exposition au polluant, sous une intensité de 100  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  à 25°C . Nous remarquons que le paramètre  $\text{Et}_0/\text{RC}$  est plus sensible que  $\text{ABS}/\text{RC}$ ,  $\text{Tr}_0/\text{RC}$  et  $\text{DI}_0/\text{RC}$ , mais aussi plus sensible que la variation d'oxygène. Pour une concentration de 1  $\mu\text{M}$  d'atrazine, nous avons une variation de 90 % par rapport au témoin pour  $\text{Et}_0/\text{RC}$  alors que la production d'oxygène n'a varié que de 20 %. Ces résultats montrent que la mesure d'oxygène est aussi un paramètre qui donne une indication sur le niveau de toxicité des polluants. Cependant pour les polluants qui agissent au niveau du PSII, comme l'atrazine, la fluorescence est plus sensible (40 % de variation pour la fluorescence à 0,05  $\mu\text{M}$  comparés à 2 % pour la production d'oxygène).





**Figure 3.3** Effet de l'atrazine sur la fluorescence et la production d'oxygène de CCPC299 au bout de 24 h d'exposition (variation par rapport au témoin).

La figure 3.4 montre l'effet du glyphosate sur la production d'oxygène en fonction des différentes concentrations testées. Nous n'avons pas représenté l'effet du glyphosate sur la fluorescence, car aucune variation des différents paramètres de fluorescence n'a été observée avec l'ajout de glyphosate par rapport au témoin pour les concentrations testées. Pour une incubation de 24 h à une intensité de  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , l'effet du glyphosate a une influence sur l'espèce CCPC299 à partir de  $30 \mu\text{M}$  (7 % de variation par rapport au témoin). La variation de production d'oxygène par rapport au témoin atteint même quasiment 20 % à partir de  $60 \mu\text{M}$ .



**Figure 3.4** Effet du glyphosate sur la production d'oxygène de CCPC299 au bout de 24 h d'exposition (variation par rapport au témoin).

### 3.5.2 Discussion

Lorsque l'on mesure l'effet de l'atrazine par fluorescence et par la production d'oxygène, nous constatons que la fluorescence est beaucoup plus sensible par rapport à la mesure d'oxygène. La mesure d'oxygène est en effet moins sensible pour tous les polluants qui affectent directement le transport d'électron au niveau du photosystème II. On peut citer comme exemple les herbicides de la famille des triazines (atrazine, simazine, propazine...) et les dérivés d'urées substituées (diuron, linuron...) qui sont ainsi plus directement détectés par fluorescence.

La comparaison des deux techniques pour mesurer l'effet du glyphosate est très prometteuse. Les résultats obtenus sont un exemple concret que la mesure d'oxygène peut être plus sensible que la mesure de fluorescence pour certains polluants. L'exemple du glyphosate est ainsi, à notre connaissance, le premier exemple de polluant dont l'effet est plus important sur la production d'oxygène que sur la mesure de fluorescence, avec une variation de plus de 15 % sur 24 h (allant jusqu'à 40 % sur 48 h) pour une concentration de 60  $\mu\text{M}$  sans observer le moindre effet sur la fluorescence. Ce résultat est donc la première preuve, à ce jour, de la complémentarité de sensibilité des capteurs d'oxygène par rapport aux capteurs de fluorescence pour mesurer la toxicité des polluants sur les phytoplanctons.

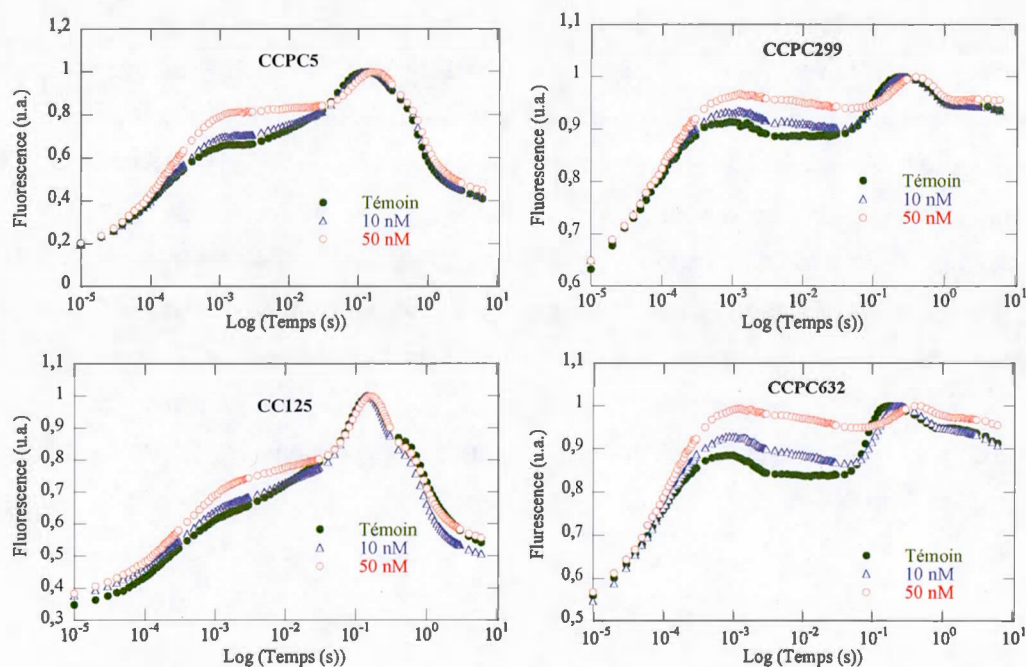


Nous pouvons nous servir de ce résultat comme preuve de concept de complémentarité des différentes mesures pour notre future plateforme multicateurs, ce résultat est aussi d'un point de vue biologique très intéressant. Bien que nous nous sommes concentrés plus particulièrement sur l'utilité de ce phénomène, nous pourrions poursuivre nos recherches sur l'interprétation de l'effet du glyphosate. Pourquoi remarque-t-on un effet sur la production d'oxygène (normalisé par rapport à la concentration cellulaire) alors qu'il n'y a eu aucun effet sur la fluorescence et la croissance cellulaire?

### 3.6 Complémentarité des espèces de phytoplanctons

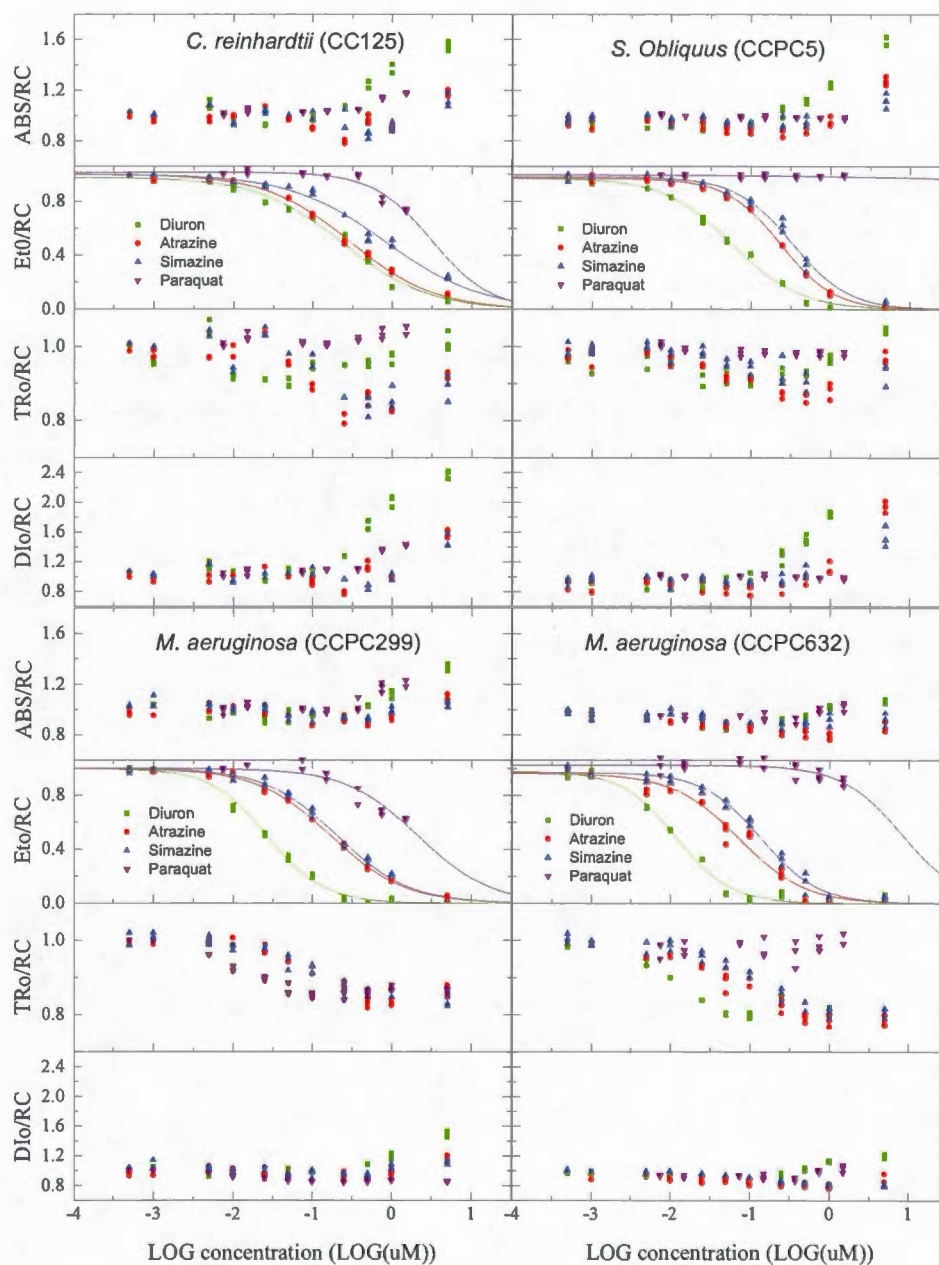
#### 3.6.1 Résultats

La figure 3.5 montre les cinétiques de fluorescence des phytoplanctons testées. Nous avons seulement représenté la courbe témoin et celle avec l'ajout de diuron de concentration 10 nM et 50 nM pour éviter de trop surcharger les graphiques.



**Figure 3.5** Mesure de cinétique fluorescence des espèces CC125, CPCC299, CCPC632 et CCPC5 (témoin, 10 nM et 50 nM de diuron) au bout de 30 min d'incubation.

Nous remarquons d'une part que la cinétique de fluorescence des quatre espèces de phytoplanctons varie au cours du temps, et que cette variation est différente d'une espèce à une autre. En effet, la variation de cinétique de fluorescence des phytoplanctons est dépendante de leur physiologie. L'intensité globale de fluorescence dépend de la quantité de chlorophylle présente dans les cellules (86, 87). Il en résulte que l'intensité de fluorescence de la *C. reinhardtii* est plus importante que la *S. obliquus* et des 2 autres cyanobactéries. Et la variation de cinétique dépend de l'efficacité photosynthétique du photosystème II. Ainsi, la présence d'un polluant qui agit au niveau du système photosynthétique des phytoplanctons se traduit par la modification de leur variation de cinétique de fluorescence. Nous pouvons ainsi remarquer que la présence du polluant Diuron à la concentration 10 nM et 50 nM a pour effet une augmentation de la fluorescence des phytoplanctons. En effet, le Diuron agit directement au niveau du site  $Q_B$  de la protéine D1 du photosystème II (76), et bloque le transfert d'électron entre le PSII et le PSI, résultant d'une diminution de l'efficacité photosynthétique et donc d'une augmentation de fluorescence. Nous avons les mêmes changements dans l'allure de la fluorescence pour l'atrazine et la simazine puisqu'ils ont le même mode d'action que le diuron. Nous constatons aussi sur la figure 3.5 que l'effet du diuron, à une même concentration, n'induit pas les mêmes changements dans l'allure de fluorescence pour tous les phytoplanctons. La toxicité du Diuron à une concentration donnée n'est donc pas la même en fonction des espèces de phytoplanctons testées. Ce phénomène est similaire pour l'atrazine, la simazine et pour tous les polluants. Chaque espèce de phytoplanctons a un bagage génétique différent qui se traduit par une sensibilité différente aux polluants en général. Afin de mieux visualiser et quantifier l'effet des polluants sur les quatre espèces de phytoplanctons, nous avons représenté sur la figure 3.6 les courbes dose-réponse des quatre polluants (diuron, atrazine, simazine et paraquat) pour les paramètres  $E_t/RC$ ,  $ABS/RC$ ,  $DI_0/RC$  et  $Tr_0/RC$ .

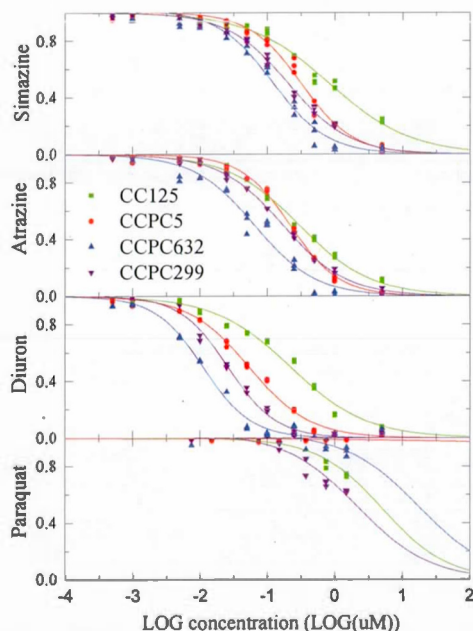


**Figure 3.6** Variation des paramètres de fluorescence ( $E_{t0}/RC$ ,  $ABS/RC$ ,  $DI_0/RC$  et  $TR_0/RC$ ) des espèces CC125, CCPC299, CCPC632 et CCPC5 en fonction de la concentration des polluants simazine, diuron, atrazine et paraquat (incubation 30 min sous lumière de  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ).

### 3.6.2 Discussion

Pour un même phytoplancton, nous observons des variations différentes entre les différents paramètres calculés. Ces variations dépendent à la fois de l'espèce de phytoplancton et du mode d'action du polluant (88-90). La détection de pollution par fluorescence avec une espèce de phytoplancton permet donc de donner d'une part une indication sur l'effet toxique du polluant et sur le mode d'action de celui-ci.

Afin de mieux visualiser la sensibilité des phytoplanctons aux différents polluants, mais aussi de montrer la complémentarité des différentes espèces pour la détection de polluant, nous avons regroupé les différentes données d' $Et_0/RC$  et tracé les courbes dose-réponse de ce paramètre pour chaque polluant (figure 3.7). L'annexe C regroupe les quatre paramètres  $Et_0/RC$ ,  $ABS/RC$ ,  $DI_0/RC$  et  $Tr_0/RC$  pour les quatre phytoplanctons en fonction des polluants. Bien que le raisonnement qui va être établi s'appuie sur le paramètre le plus sensible trouvé dans la section précédente (voire équivalent au  $DI_0/RC$  pour le paraquat), il sera aussi valable pour les trois autres paramètres calculés précédemment.



**Figure 3.7** Effet du diruon, de l'atrazine et de la simazine sur le paramètre  $Et_0/RC$  pour les espèces CC125, CCPC5, CCPC632 et CCPC299.

Nous remarquons que chaque phytoplancton a des sensibilités différentes pour un même polluant. Par ordre de sensibilité, pour le diuron CPCC632 > CPCC299 > CCPC5 > CC125, pour l'atrazine CPCC632 > CCPC299 > CC125 = CCPC5, pour la simazine CPCC632 > CPCC299 > CCPC5 > CC125, et pour le paraquat CPCC299 = CC125 > CCPC299 > CCPC5. À partir des courbes dose-réponse de chaque espèce, nous pouvons en déduire les concentrations efficaces (EC) à 20 %, 50 % et 80 % d'effet du polluant par rapport au témoin  $EC_{20}$ ,  $EC_{50}$  et  $EC_{80}$  pour  $Et_0/RC$  pour chaque espèce et pour les quatre polluants. Les valeurs sont représentées dans le tableau 3.3. Pour la suite de l'analyse, nous prendrons comme valeur de sensibilité la valeur  $EC_{20}$ . Nous avons choisi cette valeur, car elle prend en compte la marge d'erreur moyenne des mesures de fluorescence de 10 %.

Nous constatons que la fluorescence est un bon indicateur de toxicité, avec des sensibilités pour des concentrations aussi petites que 4 nM, 19 nM et 43 nM si on prend en compte l' $EC_{20}$  de l'espèce CCPC632 pour le diuron, l'atrazine et la simazine. La sensibilité pour le paraquat est plus faible avec 295 nM pour la CCPC299. Les mesures sont rapides, de quelques minutes (le temps d'incubation testé était de 30 min). Les valeurs de sensibilité sont inférieures aux critères québécois de qualité de l'eau pour la prévention de la contamination de l'eau et des organismes aquatiques pour le diuron (643 nM), la simazine (50 nM) et l'atrazine (23 nM). Cependant, la sensibilité des phytoplanctons testées pour le paraquat, de 395 nM pour la CCPC299, est au-dessus de ces mêmes critères (39 nM). Ces résultats montrent tout le potentiel des mesures de fluorescence pour évaluer la toxicité des polluants, et notamment les herbicides qui agissent au cœur du complexe photosynthétique.



**Tableau 3.3** Différents ECx en fonction des polluants et des phytoplanctons.

	Atrazine			Simazine			Diuron			Paraquat		
(nM)	EC <sub>80</sub>	EC <sub>50</sub>	EC <sub>20</sub>	EC <sub>80</sub>	EC <sub>50</sub>	EC <sub>20</sub>	EC <sub>80</sub>	EC <sub>50</sub>	EC <sub>20</sub>	EC <sub>80</sub>	EC <sub>50</sub>	EC <sub>20</sub>
CC125	x <sup>1</sup>	827	122	x <sup>1</sup>	299	55	1344	221	36	x <sup>1</sup>	x <sup>1</sup>	1094
CCPC5	1090	318	93	709	220	68	228	54	13	x <sup>1</sup>	x <sup>1</sup>	x <sup>1</sup>
CCPC632	440	119	32	275	65	15	35	11	4	x <sup>1</sup>	x <sup>1</sup>	x <sup>1</sup>
CCPC299	871	205	48	765	172	39	83	26	8	x <sup>1</sup>	x <sup>1</sup>	395

À partir de ces résultats, comment peut-on utiliser ces différences de sensibilité des phytoplanctons aux polluants pour concevoir un capteur de toxicité global aux contaminants? Quelle est l'utilité d'inclure plusieurs espèces de phytoplanctons dans un même dispositif? Sensibilité, et représentativité (représentation de la toxicité des contaminants sur plusieurs organismes vivants) sont les deux paramètres essentiels que la combinaison de plusieurs espèces apporterait. Plusieurs espèces de phytoplanctons, de bagages génétiques différents, augmentent le facteur de représentativité de la toxicité des contaminants sur les algues et cyanobactéries en général. Enfin, la complémentarité de sensibilité des différents phytoplanctons aux différents contaminants augmente la sensibilité générale du futur dispositif qui inclurait ces différentes espèces.

Par exemple, la CCPC632 est l'espèce la plus sensible à l'atrazine, diuron et simazine, mais est beaucoup moins sensible que la CCPC299 et la CC125 pour le paraquat. L'intégration de toutes ces espèces en même temps permet d'offrir une plus grande sensibilité sur une gamme plus large de polluants (en l'occurrence pour l'atrazine, diuron, simazine et paraquat). Cependant, nous avons constaté que ces quatre espèces à elles seules ne permettent pas d'avoir pour tous les polluants une EC<sub>20</sub> inférieure aux critères de qualité de l'eau pour la prévention de la contamination de l'eau et des organismes aquatiques fixés par le Québec. Ainsi, il faudrait trouver ou modifier génétiquement une espèce de phytoplancton qui aurait une sensibilité suffisante.

<sup>1</sup> Valeurs non indiquées car elles se trouvent en dehors de la gamme de concentrations de polluants

### 3.7 Traitement de données pour la détection de mélanges de plusieurs contaminants

Nous avons dans les deux sections précédentes démontré l'utilité et la faisabilité de notre dispositif pour la détection de polluants seuls. Nous allons dans la section suivante montrer les possibilités et les limites que l'on peut obtenir avec un bio-essai à base de plusieurs espèces de phytoplanctons grâce au traitement de données fait avec des logiciels de catégorisation.

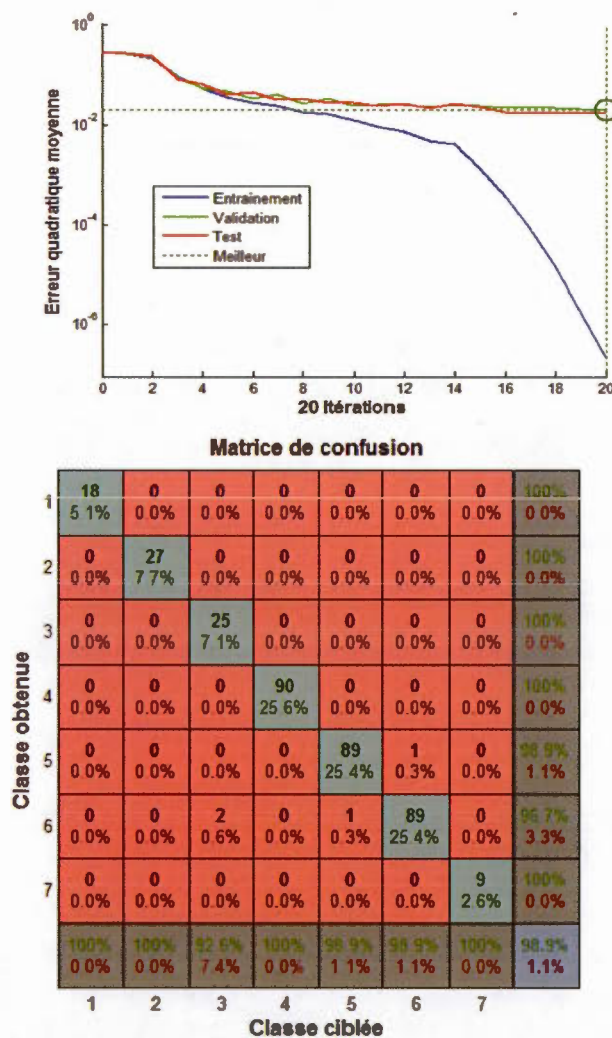
#### 3.7.1 Résultats

La figure 3.8 montre les performances de l'analyse avec un réseau de neurones obtenu avec les données de fluorescence des phytoplanctons CCPC632, CCPC299, CCPC5 et CC125 pour la reconnaissance des polluants seuls et pour la reconnaissance de mélanges binaires des polluants diuron, atrazine et simazine. La figure 3.8 inclut à la fois la matrice de confusion globale du réseau et l'erreur quadratique moyenne en fonction du nombre d'itérations pour les deux types de reconnaissances testées (polluant seul et mélange). Au total, 351 mesures ont été utilisées pour entraîner, valider et tester le réseau de neurones pour les mélanges binaires (A+D, D+S, S+A). Le réseau de neurones a été composé de 16 neurones d'entrée, correspondant aux 4 paramètres des 4 phytoplanctons testés, d'une couche cachée de 32 neurones et de 7 neurones de sortie, correspondant aux différentes classes de sortie.

Nous avons ainsi obtenu une reconnaissance de plus de 98%. En effet, 98% des 351 données d'entrées ont été bien classées dans les catégories de sortie (classes ciblées). Concrètement, pour une mesure de fluorescence (les quatre paramètres de fluorescence des quatre phytoplanctons) avec un mélange de polluant de concentration inconnue (données d'entrée), l'ANN a réussi à distinguer (classifier) quels étaient les polluants présents (données de sortie). Cette reconnaissance prend en compte ainsi les polluants seuls, mais aussi les mélanges binaires de polluants. Une couche cachée composée de 32 neurones nous a permis d'obtenir ces résultats. Seulement 20 itérations ont été nécessaires afin de minimiser l'erreur quadratique moyenne de la validation de l'apprentissage. Puisque les données d'entrées au réseau de neurones (70 % pour l'entraînement, 15 % pour la validation et 15 % pour le test) sont entrées aléatoirement, les résultats obtenus varient. Nous avons ainsi représenté la



meilleure reconnaissance obtenue. D'après le tableau de la matrice de confusion, nous pouvons voir que 100% des données correspondant aux témoins (classe 7) ont été reconnus à 100%. Ainsi, aucune erreur n'a été faite pour dire si l'eau est contaminée ou non. La plupart des erreurs ont été faites sur les mélanges de polluants, même s'il faut prendre en compte que seulement 4 erreurs ont été faites sur 351 reconnaissances.



**Figure 3.8** Courbes de performance (erreur quadratique moyenne et matrice de confusion) du réseau de neurones obtenu avec les polluants seuls et les mélanges binaires de polluants.

### 3.7.2 Discussion

L'analyse des données par réseaux de neurones a déjà été montrée comme étant une solution possible pour répondre à des problèmes complexes, hautement non linéaires (79, 80, 91). Les phytoplanctons et la détection avec celles-ci entrent dans cette gamme d'analyses complexes. Dans le cas des études déjà faites avec les ANNs, on parlait de capteur indépendant, les ANNs pouvaient classifier et donner une prédiction sur la teneur en polluant après un apprentissage. Deux points sont importants : l'indépendance des capteurs (= spécificité des capteurs), et l'indépendance entre les polluants. Or avec des phytoplanctons, les capteurs ne sont pas indépendants, car non spécifiques, et les polluants entre eux peuvent avoir des effets additifs, antagonistes ou synergiques qui complexifient ainsi le problème. Pourtant, on peut voir avec nos résultats que les ANNs peuvent classifier les polluants et distinguer chaque polluant les uns des autres, et ce, même pour les mélanges.

Malgré la complexité du problème de détection avec les phytoplanctons, nous tirons avantage de la quantité d'informations que donne la cinétique de fluorescence, avec les différents paramètres qui donnent des indications sur le mode d'action du polluant. La classification joue sur les tendances des paramètres, et les proportions entre eux. Peu importe que les polluants soient additifs ou synergiques, les tendances seront représentatives d'un polluant ou de la classe de polluants.

Nous pouvons aussi dire que les données des paramètres de fluorescence sont suffisamment différentes pour que l'ANN puisse identifier les différents polluants. Ce résultat est particulièrement intéressant puisque les polluants testés ont les mêmes mécanismes d'action au niveau du cycle photosynthétique. Ainsi, nous sommes capables de distinguer des polluants et les mélanges de polluants lorsqu'ils ont le même mode d'action sur les phytoplanctons, et lorsqu'ils appartiennent à la même famille de polluant. Il nous a suffi d'inclure plusieurs espèces de phytoplanctons dans les données d'entrées. Même si ce résultat est seulement valable dans le cadre de notre étude, puisqu'un ANN est seulement valable en fonction du cadre des données d'entrées qu'on lui a fixé au préalable, nous pouvons déjà dire que l'utilisation de logiciels de type reconnaissance artificielle peut être une avenue possible au traitement de données d'un dispositif qui inclurait plusieurs espèces de phytoplanctons.

Nous ne pouvons pas extrapoler nos résultats pour conclure qu'un dispositif à base de plusieurs espèces de phytoplanctons pourra dire quel polluant est présent dans les contaminants, néanmoins nous pouvons dès à présent avancer l'idée que ce type de dispositif pourrait avoir une certaine spécificité dans les mesures. Nous pourrions ainsi imaginer que nous donnerions comme indication la catégorie de contaminant présent, en intégrant directement la cinétique complète de fluorescence des phytoplanctons.

### 3.8 Conclusion

Nous avons dans ce chapitre proposé puis justifié la faisabilité et l'utilité du concept de dispositif intégrant à la fois plusieurs capteurs et plusieurs espèces de phytoplanctons. La sensibilité, la représentativité, la fiabilité, le faible coût et les faibles contraintes d'analyse (manipulation, protocole de mesure) sont autant de paramètres essentiels pour les tests de toxicité que notre preuve de concept serait capable d'englober. Nous avons prouvé la complémentarité de la mesure de fluorescence et d'oxygène, qui seront les deux types d'analyse que l'on intégrera dans les chapitres suivants. Nous avons aussi montré la complémentarité des différentes espèces de phytoplanctons pour pouvoir améliorer la sensibilité du dispositif sur une plus vaste gamme de contaminants. Enfin, nous avons avancé l'idée que ce type de dispositif pourrait aussi donner une réponse plus spécifique en utilisant un traitement de données de type intelligence artificielle.

Nous pouvons ainsi classifier 3 types d'information que notre concept de plateforme multicapteurs pourrait nous donner :

- Donner une indication sur la pollution : oui ou non l'eau toxique.
- Donner une indication sur le niveau de toxicité (par rapport à un polluant standard)
- Donner une indication sur la classe de polluant présente dans les contaminants.

La sélection préalable des espèces de phytoplanctons est donc primordiale pour avoir d'une part des capteurs sensibles pour tous les polluants chimiques, et d'autre part pour avoir des capteurs complémentaires afin d'améliorer les chances de reconnaissance du réseau de neurones.

## CHAPITRE IV

### CAPTEUR DE FLUORESCENCE À BASE DE DISPOSITIFS OPTOÉLECTRONIQUES ORGANIQUES: PRINCIPE ET CARACTÉRISATION DES COMPOSANTS

#### 4.1 Introduction

Depuis le prix Nobel gagné après la découverte de la conductivité des polymères conducteurs par Heeger, MacDiarmid et Shirakawa (92), les chercheurs n'ont cessé d'améliorer les propriétés optoélectroniques des semi-conducteurs organiques. On les retrouve maintenant dans les principaux dispositifs électroniques (transistor organique (93), OLED (diode électroluminescente organique), cellule solaire (94), OPD (photodétecteur organique) (95) ...) et dans pratiquement tous les domaines (affichage, capteurs, panneaux solaires, ...). Initialement développés pour l'affichage par Kodak (96), les OLEDs se retrouvent dans de nombreuses applications (éclairage (97), détection optique). De même, les diodes photosensibles organiques, dont les recherches ont au début été concentrées sur l'application solaire (94), trouvent aujourd'hui d'autres applications comme les détecteurs optiques (98, 99). Nous allons dans ce chapitre montrer que ces dispositifs optoélectroniques organiques<sup>2</sup> s'intègrent très facilement et offrent de nombreux avantages pour la conception d'un capteur de fluorescence miniature. Bien qu'il soit possible d'intégrer un capteur de fluorescence avec des dispositifs inorganiques dans une puce microfluidique (55, 100, 101), l'intégration de plusieurs capteurs de caractéristiques spectrales différentes est beaucoup plus compliquée du fait que les composants ne peuvent pas être fabriqués sur le même support. Plusieurs détecteurs miniatures dans des puces microfluidiques à base de dispositifs organiques soit avec des OLEDs (102-104), soit avec des OPDs (105, 106) ont été

---

<sup>2</sup> Nous utiliserons par la suite le terme dispositifs organiques pour désigner les dispositifs optoélectroniques organiques

développés. Ils ont montré le potentiel d'intégration et d'adaptation des dispositifs organiques en fonction de l'application souhaitée. Cependant, un seul exemple de capteur de fluorescence avec à la fois une OLED et un OPD dans une puce microfluidique a été publié (107). Nous allons voir dans ce chapitre, par les différents exemples de dispositifs fabriqués, comment nous pouvons moduler et améliorer les caractéristiques de chaque composant en fonction d'une application future. Dans le même temps, nous verrons que les filtres d'absorption à base de colorants, initialement développés par R.J. Wallace et utilisés dans un premier temps pour les observations astronomiques (108), puis démocratisés pour des caméras optiques et comme filtres d'affichage (109), trouvent aussi leur utilité pour la détection de fluorescence et l'intégration de capteurs optiques miniatures.

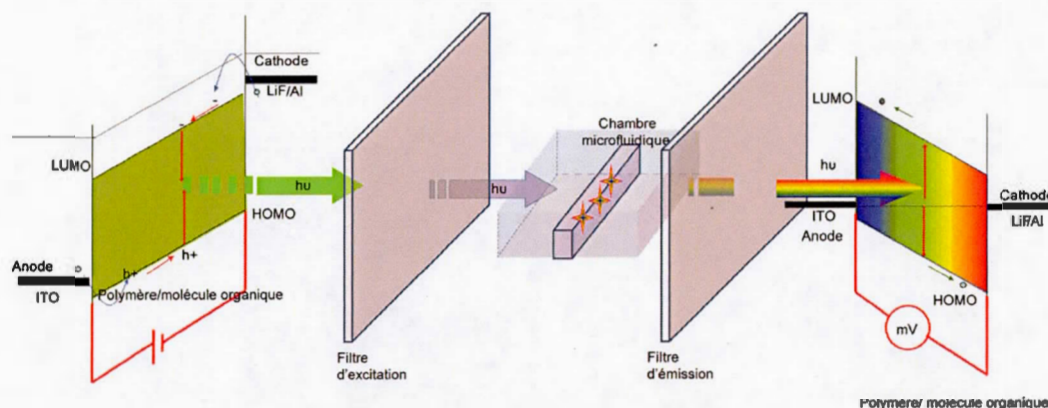
Nous allons dans ce chapitre montrer comment concevoir un capteur de fluorescence avec des dispositifs organiques dans une puce microfluidique. Il sera constitué d'OLEDs, de photodétecteurs organiques, de filtres optiques d'absorption, intégrés de façon hétérogène dans une puce microfluidique. Après avoir présenté le principe d'intégration d'un capteur de fluorescence et de ses composants, nous verrons les différentes caractéristiques qu'offrent les dispositifs organiques pour un capteur de fluorescence. Nous détaillerons la fabrication du capteur par la présentation des caractéristiques de ses différents composants. Plusieurs exemples de dispositifs seront présentés pour chaque composant afin de montrer l'universalité de ce type de fabrication pour les applications futures. Nous verrons l'énorme avantage que présentent à la fois les dispositifs organiques et les filtres d'absorptions pour moduler leurs caractéristiques en fonction de l'application voulue.

#### 4.2 Principe du capteur de fluorescence et de ces composants

Le principe d'un capteur de fluorescence à base de dispositifs organiques est représenté dans la figure 4.1. Tout capteur de fluorescence se compose d'une source excitatrice, d'un détecteur et d'une chambre de détection. La source excitatrice émet un rayonnement qui va exciter les fluorophores (molécules ou organismes fluorescents) présents dans la chambre de détection afin que le détecteur puisse capter les photons émis par fluorescence. Les niveaux d'énergie des photons émis par l'OLED et absorbés par l'OPD dépendent des matériaux organiques qui les composent. L'OLED joue le rôle de la source d'excitation, et l'OPD celui du détecteur. Les filtres optiques se placent de part et d'autre de la chambre de détection dans



la puce microfluidique de manière à ce que le détecteur ne détecte que le signal de fluorescence.

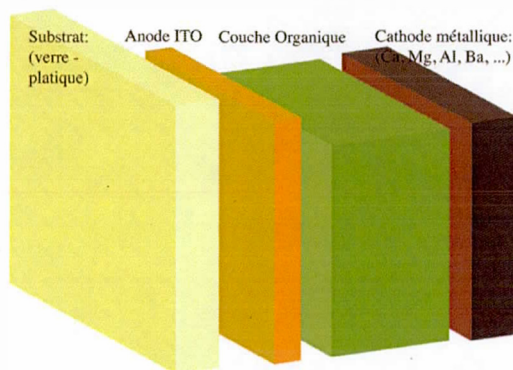


**Figure 4.1** Principe de fluorescence à base de dispositif organique.

Les OLEDs et les OPDs sont tous les deux des diodes organiques composées d'une couche de semi-conducteurs organiques, avec une épaisseur d'environ 100 nm, prise en sandwich entre deux électrodes conductrices (figure 4.2). Typiquement, les deux électrodes sont une cathode métallique (Ca, Al, Ba, Ag...) de 100-150 nm et une anode transparente en ITO de 100-150 nm. Ainsi, l'épaisseur totale d'une diode organique est de 300 nm environ, lorsque l'on ne compte pas l'épaisseur du support en verre ou en plastique et de l'encapsulation. La différence entre une OLED et l'OPD réside dans le choix des semi-conducteurs organiques et son mode de fonctionnement. Pour l'OLED, on applique une tension positive entre les deux électrodes afin que la couche organique émette des photons, alors que pour les OPDs la couche organique absorbe les photons pour les convertir en courant.

Pour les deux dispositifs, les semi-conducteurs organiques peuvent être soit des petites molécules, soit des polymères. Ils peuvent se déposer ainsi par voie liquide (impression par jet d'encre, ou par tournette) ou par évaporation sous vide. Ces matériaux organiques se caractérisent par une plus faible mobilité des trous et électrons par rapport aux semi-conducteurs inorganiques, par une durée de vie plus courte (puisque le courant traverse les matériaux et les dégrade), et aussi par leur dégradation à l'air. En effet, les semi-conducteurs

organiques se dégradent à l'oxygène et à l'humidité. Cependant, le très faible coût de fabrication, associé aux nouvelles technologies d'encapsulation et à l'amélioration de la durée de vie des molécules organiques place la technologie des diodes organiques comme une alternative aux diodes inorganiques.



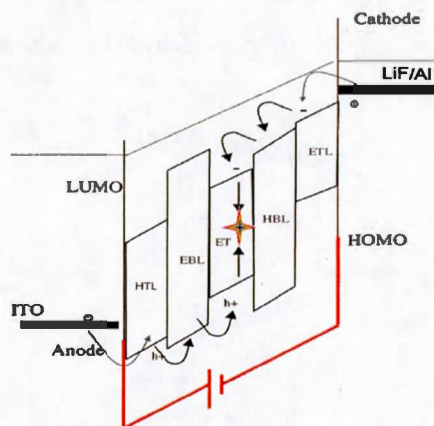
**Figure 4.2** Schéma de la structure des dispositifs organiques.

#### 4.2.1 Principe de fonctionnement des OLEDs

Le principe de fonctionnement des OLEDs est représenté sur la figure 4.3 (104). L'OLED émet des photons lorsque l'on applique une tension positive aux bornes des électrodes. À partir d'une tension de seuil, les trous injectés par l'anode et les électrons injectés par la cathode se recombinent dans la couche organique pour émettre des photons. Afin de compenser les grandes variations de mobilité des matériaux organiques, l'efficacité des diodes est améliorée en composant les OLEDs typiquement de plusieurs couches de semiconducteurs organiques : une couche de transport d'électrons (ETL), une couche d'émission (EL) et une couche de transport de trous (HTL). On peut y insérer des couches bloqueuses de trou (HBL) et d'électron (EBL) si nécessaire. Chaque couche organique a un rôle précis dans le fonctionnement de l'OLED, et peut inclure un ou plusieurs matériaux organiques. L'énergie du photon émis par l'OLED correspond à la différence d'énergie entre l'HOMO (de l'anglais highest occupied molecular orbital) et la LUMO (de l'anglais lowest unoccupied molecular orbital) de la couche d'émission organique. Ainsi, le spectre d'émission de l'OLED correspond approximativement au spectre de photoluminescence (PL) des semi-conducteurs organiques de la couche d'émission. L'OLED peut inclure une à



plusieurs couches organiques suivant que les matériaux utilisés peuvent jouer plusieurs rôles à la fois. L'OLED à base d'Alq<sub>3</sub>, composée d'une couche de NPB et d'Alq<sub>3</sub>, est un exemple où la couche d'Alq<sub>3</sub> joue le rôle d'émission et de transport d'électron. Dans le cas de l'OLED à base de DPVBi dont nous présenterons les caractéristiques plus loin dans le chapitre, une couche de barrière d'électron en BCP a été ajoutée de manière à ce que l'on concentre la recombinaison des charges dans la couche DPVBi.



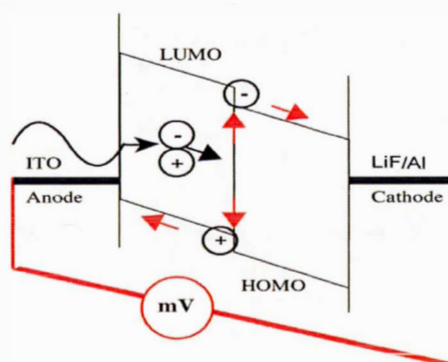
**Figure 4.3** Principe de fonctionnement des OLEDs.

Le choix de la structure des OLEDs dépend ainsi des propriétés de mobilité et des niveaux d'énergies de chaque matériau organique. Le large choix de semi-conducteurs organiques permet de moduler les caractéristiques d'efficacité et d'émission en fonction de l'application voulue.

#### 4.2.2 Principe de fonctionnement des OPDs

Les photodétecteurs organiques ont le même principe que les cellules solaires organiques, ils convertissent les photons absorbés en charges électriques (électrons et trous) (figure 4.4) (110). La couche organique se compose de deux types semi-conducteurs, un pour sa mobilité de trou et un pour sa mobilité d'électron. Lorsqu'un photon arrive sur le dispositif, il traverse l'électrode transparente en ITO pour être absorbé par les matériaux organiques. Le photon absorbé crée un exciton (une paire électron-trou), qui va diffuser jusqu'à ce qu'il trouve une interface entre les deux matériaux organiques. À cette interface,

l'exciton va se dissocier laissant l'électron migrer vers la cathode et le trou migrer vers l'anode. Ainsi, un des matériaux organiques doit avoir une plus grande mobilité d'électron et l'autre une plus grande mobilité de trou. Le spectre d'absorption de la diode organique dépend des spectres d'absorption et des constantes d'absorption des deux matériaux organiques utilisés. À polarisation nulle, l'exciton formé se dissocie grâce à la différence d'énergie entre la HOMO de la couche à mobilité d'électron et la LUMO de la couche à mobilité de trou. Afin d'améliorer l'efficacité de dissociation, nous pouvons polariser négativement la diode, afin d'augmenter le champ électrique interne de la diode.



**Figure 4.4** Principe de fonctionnement des OPDs.

Fonctionnant sur le même principe, deux types de photodétecteurs existent : à base de petites molécules et à base de polymère. Les photodétecteurs à petites molécules se composent de deux ou plusieurs couches déposées successivement. Par exemple, Peuman a publié un photodétecteur à base de CuPc et PTCDA (*111*) avec plusieurs couches évaporées en alternance. Les photodétecteurs à base de polymères peuvent très difficilement se fabriquer par alternance des couches organiques à cause des problèmes de resolubilisation de la couche inférieure lors du dépôt par voie liquide de la couche supérieure. Ainsi, les diodes polymères sont fabriquées en mélangeant au préalable les deux matériaux. La préparation est ensuite déposée sur l'ITO. De cette façon, nous augmentons aussi les interfaces entre les deux matériaux (*112*). L'efficacité des diodes est ainsi améliorée en augmentant la probabilité des excitons de rencontrer une interface. Par exemple, on retrouve dans la littérature, des

photodétecteurs polymères à base de P3HT, jouant le rôle de couche de transport de trous et de PCBM jouant le rôle de matériau de transport d'électrons.

Le principe de fonctionnement des photodétecteurs et des cellules solaires est le même, mais leurs caractéristiques et le mode de fonctionnement diffèrent. Une cellule solaire est utilisée à polarisation nulle, les paramètres principaux sont le très large spectre d'absorption, sa puissance maximale extraite, et son efficacité de conversion de la lumière du soleil. Un photodétecteur organique peut fonctionner à polarisation nulle, dans son mode photovoltaïque, mais aussi à polarisation inverse pour diminuer le temps de réponse et augmenter l'efficacité de conversion au détriment du bruit. Les paramètres principaux sont la très grande efficacité de conversion de photon à la longueur d'onde de détection, le faible bruit, faible consommation et grande vitesse de fonctionnement.

#### 4.2.3 Les filtres optiques

Les filtres optiques ont pour rôle de transmettre les longueurs d'onde souhaitées tout en empêchant les longueurs d'onde non voulues de les traverser. Pour être intégrés dans la fabrication de capteur de fluorescence, les filtres optiques doivent être dans un premier temps fins afin de maximiser le couplage optique entre la source d'émission et le capteur. Une très grande transparence pour les longueurs d'onde passantes, une très grande atténuation des longueurs d'onde coupées, et une pente d'atténuation la plus grande possible sont les principales caractéristiques souhaitées. Les filtres optiques sont le plus grand défi d'intégration dans la fabrication de capteur optique (113). Il existe principalement trois catégories de filtres optiques : les filtres interférentiels, les filtres d'absorption, et les filtres par polarisation de la lumière.

Les filtres interférentiels (114) réfléchissent les longueurs d'onde coupées tout en laissant passer les longueurs d'onde passantes. Ils sont généralement composés de plusieurs couches de matériaux inorganiques d'indices de réfraction différents déposés par pulvérisation cathodique. Les caractéristiques spectrales dépendent des indices de réfraction, de l'épaisseur et du nombre de couches déposées. L'épaisseur des couches déposées est ainsi très critique sur les caractéristiques spectrales des filtres. Ils possèdent de meilleures caractéristiques spectrales que les autres types de filtre, avec une pente d'atténuation plus

importante, une atténuation plus importante tout en ayant une transmittance de plus de 90 % pour les longueurs d'onde souhaitées.

Les filtres d'absorption absorbent les longueurs d'onde coupées, et laissent passer les longueurs d'onde passantes. Les caractéristiques spectrales de ces filtres dépendent essentiellement des spectres d'absorption des matériaux absorbants qui les composent. Ces matériaux peuvent être des semi-conducteurs inorganiques (CdS, GaSi, Si), des colorants ou des pigments organiques. Les semi-conducteurs inorganiques sont généralement déposés par CVD (de l'anglais chemical vapor deposition) ou par pulvérisation cathodique, alors que les colorants ou pigments peuvent s'évaporer ou être inclus dans une résine photosensible ou non.

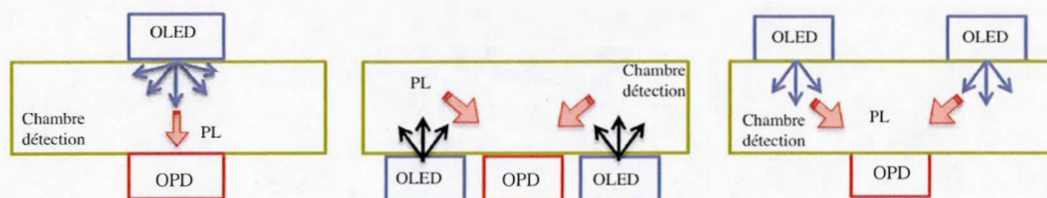
Les filtres par polarisation se composent de deux films polariseurs dont l'axe de polarisation est de  $90^\circ$  entre les deux. La lumière incidente est polarisée en passant à travers le premier film. De ce fait, la lumière polarisée incidente ne peut pas traverser le deuxième film puisque son axe de polarisation est à  $90^\circ$ . Cependant, la lumière émise par fluorescence (avec une polarisation aléatoire) peut traverser le deuxième film et être détectée par le photodétecteur. Malgré le fait que le détecteur ne peut détecter que le signal de fluorescence, les films de polarisation absorbent plus de 60 % de la lumière incidente.

#### 4.3 Partie expérimentale

##### 4.3.1 Choix de la géométrie du capteur de fluorescence

L'émission de fluorescence est isotrope, avec une émission de photon dans les  $360^\circ$ . Cette caractéristique offre la possibilité à la source d'excitation et au détecteur d'être placé indépendamment dans l'espace. Généralement, ces deux composants sont éloignés de  $90^\circ$  dans les équipements standard de laboratoire, pour éviter de saturer le photodétecteur par la source d'excitation. Dans notre cas, nous avons des dispositifs organiques avec des OLEDs qui jouent le rôle de la source excitatrice et les photodétecteurs organiques qui jouent le rôle de détecteur. Ces deux composants sont issus d'une technologie planaire, nous laissant le choix entre trois agencements possible pour la fabrication du capteur de fluorescence tel qu'illustré sur la figure 4.5. Soit les deux composants se situent dans le même plan

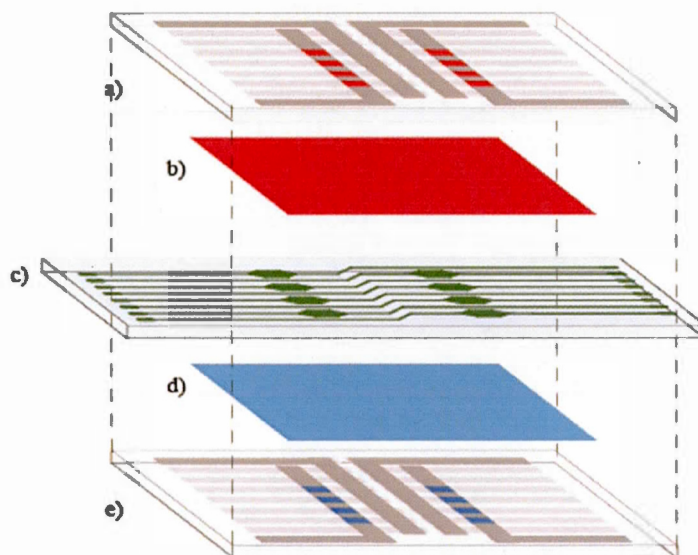
horizontal, l'un à côté de l'autre, soit l'un en face de l'autre dans le même plan vertical, soit l'un en face de l'autre avec un décalage horizontal. De ces trois agencements, nous avons privilégié l'alignement de l'OLED avec le photodétecteur dans le même plan vertical, de part et d'autre de la chambre de détection afin de maximiser le signal de fluorescence qui sera détecté. Cependant, cette option d'intégration nécessitera l'intégration de filtres optiques afin de détecter seulement le signal de fluorescence sans saturer le photodétecteur des rayonnements provenant des OLEDs.



**Figure 4.5** Différents agencements possibles pour la détection de fluorescence à base de dispositifs organiques (image non à l'échelle).

Afin de montrer le potentiel d'intégration de plusieurs capteurs de fluorescence par des dispositifs organiques, nous avons choisi de fabriquer une puce pour la détection de fluorescence dont le design est représenté sur la figure 4.6. Cette figure montre l'empilement des composants qui constituent le capteur de fluorescence à base de dispositifs organiques dans la configuration préalablement choisie. Une puce microfluidique, contenant plusieurs chambres de détection (remplies de phytoplanctons pour notre application), a été fabriquée à partir d'une lamelle de microscope en verre de 1 mm d'épaisseur, sur laquelle les canaux et chambres ont été préparés avec du PDMS (poly diméthylsiloxane). Les OLEDs et les OPDs se trouvent de part et d'autre de la puce. Un filtre d'excitation a été placé entre l'OLED et la chambre de détection afin de couper une partie de l'émission de l'OLED pour ne pas saturer le photodétecteur comme nous allons l'expliquer ultérieurement. Un second filtre (filtre d'émission) a été placé entre la chambre de détecteur et le photodétecteur afin d'enlever les photons de l'OLED qui n'ont pas été absorbés par les microorganismes. L'intégration des deux filtres optiques permettra au dispositif de détecter seulement la fluorescence émise par les phytoplanctons.





**Figure 4.6** Vue explosée du capteur de fluorescence à base de dispositifs organiques. Autour de la puce microfluidique (c) se trouvent de part et d'autre les OLEDs (e), les OPDs (a) et le filtre d'excitation (d) et d'émission (b).

#### 4.3.2 Fabrication des composants du capteur de fluorescence

La puce microfluidique en PDMS a été fabriquée par les techniques de lithographie douce. Un moule sur une gaufre de silicium, avec des motifs qui constituent les canaux et les chambres de détection de 1 mm d'épaisseur, a été fabriqué à partir de la résine SU8-2150 (Microchem®). La partie supérieure des canaux en PDMS, dont les motifs ont été moulés à partir du moule en SU8, a été collée sur une plaque de verre de 1 mm, recouverte de PDMS non réticulé et déposé par tournette à 4000 rpm afin d'obtenir des canaux PDMS-PDMS (totalement hydrophobe en PDMS). La puce microfluidique se compose de plusieurs chambres de détection (jusqu'à 16) de 1 mm d'épaisseur et 4x3 mm de dimension.

Les dispositifs organiques ont été fabriqués à partir d'une plaque de verre sur laquelle a été prédéposée une couche d'ITO ( $15 \Omega/\square$  de qualité OLED). Les OLEDs et OPDs sont fabriquées sur les substrats d'ITO nettoyés et traités au plasma d'oxygène. Deux types d'OLEDs, bleue et verte, ont été fabriqués sur le même substrat. La couche organique des OLEDs vertes (NPB, 50 nm + Alq<sub>3</sub>, 50 nm) et des OLEDs bleues (NPB 50 nm + DPVBi,

30 nm + BCP, 5 nm + Alq<sub>3</sub>, 35 nm) (115) ont été déposées thermiquement à 1-2 Å/s dans un évaporateur sous vide ( $2 \times 10^{-6}$  Torr). Entre chaque couleur puis juste avant le dépôt de la cathode, le masque d'évaporation a été changé (au total 3 changements de masque ont été effectués). Des couches de LiF (1 nm) et d'aluminium (100 nm) ont été déposées par-dessus les couches organiques dans le même évaporateur après avoir changé de masque d'évaporation (nécessitant de casser le vide). Les OPDs ont été fabriqués à partir du polymère conducteur PTB3, polymère synthétisé et gracieusement offert par le groupe de Luping Yu à Chigago (116). Pour ce faire, la couche active a été préparée à partir d'un mélange 1 :1 de PTB3 et PCBM dans du chlorobenzène avec 3 % en volume de 1,8-diiodooctane. La mixture a été déposée sur la plaque d'ITO par tournette (700 rpm pendant 1 min). Une couche de 1 nm de LiF et 100 nm d'aluminium ont été évaporés sous vide pour compléter les dispositifs. Tous les dispositifs organiques ont été encapsulés sous boîte à gant ( $[O_2] < 1$  ppm,  $[H_2O] < 1$  ppm) avec une plaque de verre de 1 mm scellée avec une colle époxy réticulée sous UV.

Les deux filtres optiques (absorption et émission) ont été fabriqués par incorporation de colorants dans une résine. Plusieurs colorants organiques et pigments colorés et complexes métalliques colorés ont été testés en mesurant leur spectre d'absorption au préalable avant leur incorporation dans une résine. La résine utilisée pour les filtres d'absorption à base de colorant est une gélatine de poisson préparée par ajout d'eau avec de la poudre de gélatine déshydratée. Les concentrations de colorants n'ont pas été mesurées pour cette étude puisque nous sommes seulement intéressés à comparer les différentes longueurs d'onde d'absorption. Puisque les pigments sont insolubles dans l'eau, les films à base de ceux-ci ont été directement fabriqués par évaporation thermique (films de 100 nm) sur des plaquettes de microscope en verre. La résine colorée pour la fabrication du filtre d'émission est synthétisée d'après L.F. Warren et coll. (67). Les filtres optiques ont été fabriqués par dépôt de ces résines colorées par tournette sur une plaque de verre.

#### 4.3.3 Caractérisations électriques et optiques des composants

Les caractérisations I-V ont été faites avec le Keithley 2400 et 2601a, les mesures spectrales des OLEDs avec le spectrophotomètre USB2000 (Ocean Optics). Les mesures d'absorption/transmittance ont été faites avec le spectromètre UV-VIS Cary 300 pour l'étude

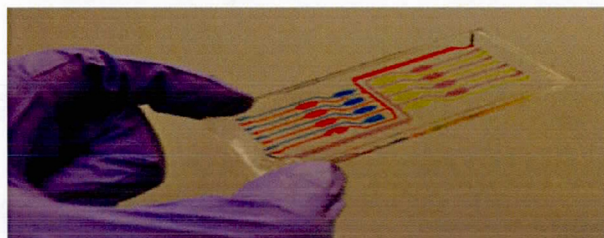


des caractéristiques d'absorption des filtres. Toutes les mesures d'absorption ont été prise sur des films de 100 nm d'épaisseur. Les mesures d'EQE ont été faites avec le keithley 2601a à partir d'une lamp xénon avec un monochromateur (Cornerstone 130 1/8 M, Oriel) d'une intensité de 20  $\mu$ W. Une diode en silicium avec une réponse spectrale calibrée a servi de référence (PDB-C160SM, Advanced photonix inc.).

#### 4.4 Résultats et discussion

##### 4.4.1 Caractéristique de la puce microfluidique

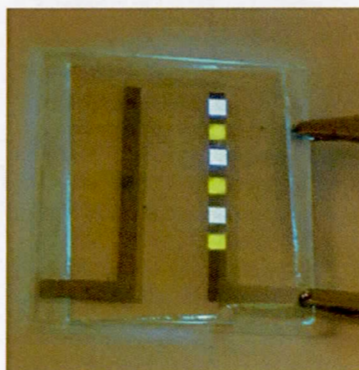
La figure 4.7 montre une image de la puce microfluidique en PDMS fabriquée. La puce est transparente, avec une transparence supérieure à 90 % dans le visible. Elle se compose de 16 chambres de détection, 16 entrées et 2 sorties. Les chambres de détection sont toutes de même dimension, de 1 mm d'épaisseur pour accueillir 9  $\mu$ L de liquide. Les motifs et leurs dimensions peuvent facilement être modulés en fonction des caractéristiques géométriques souhaitées telles que nous l'avons vu dans la section 4. Parmi les différentes options de fonctionnalisation du PDMS, nous avons choisi de conserver les canaux totalement hydrophobes afin d'éviter toute contamination possible du PDMS par l'analyte (qui sera dans les chapitres suivants le milieu de culture des phytoplanctons). Mais aussi, par notre méthode de fabrication, nous n'avons pas eu besoin de coller des deux parties de canaux par plasma d'oxygène, qui aurait créé comme effets secondaires des minis fissures dans les canaux.



**Figure 4.7** Image de la puce microfluidique en PDMS fabriquée.

#### 4.4.2 Caractéristiques des OLEDs fabriquées

La photo 4.8 montre les OLEDs bleues et vertes fabriquées sur le même substrat. Elle montre le grand potentiel d'intégration de plusieurs sources d'émission qu'offrent les OLEDs. Dans le cas des OLEDs fabriquées par évaporation, l'intégration de plusieurs couleurs d'émission est limitée par l'alignement des masques d'évaporation, typiquement de quelques dizaines de microns. Contrairement aux diodes inorganiques (émission sur le côté), l'émission des OLEDs est à  $180^{\circ}\text{C}$  sur le dessus. Les photons sont donc émis directement vers la chambre de détection dans la puce microfluidique, sans nécessiter de lentille optique pour diriger les photons. Nous constatons aussi que la géométrie des OLEDs dépend du croisement entre la cathode en aluminium et l'anode en ITO. Ainsi, la géométrie et la taille des pixels des OLEDs peuvent facilement être changées en changeant les dimensions des croisements. Les pixels des OLEDs peuvent aller de quelques dizaines de microns à plusieurs dizaines de millimètres de longueur. Cette caractéristique est propre aux dispositifs organiques, et s'applique aussi pour les photodétecteurs organiques. Il est ainsi très facile de moduler les géométries des surfaces actives des dispositifs organiques en fonction de la géométrie de l'application voulue. Dans le cas de l'intégration de notre capteur de fluorescence organique, les surfaces actives des dispositifs ont été de la même dimension que les chambres de détection de la puce microfluidique (3x4 mm).



**Figure 4.8** Photo d'OLEDs bleues et vertes sur une même plaque de verre.

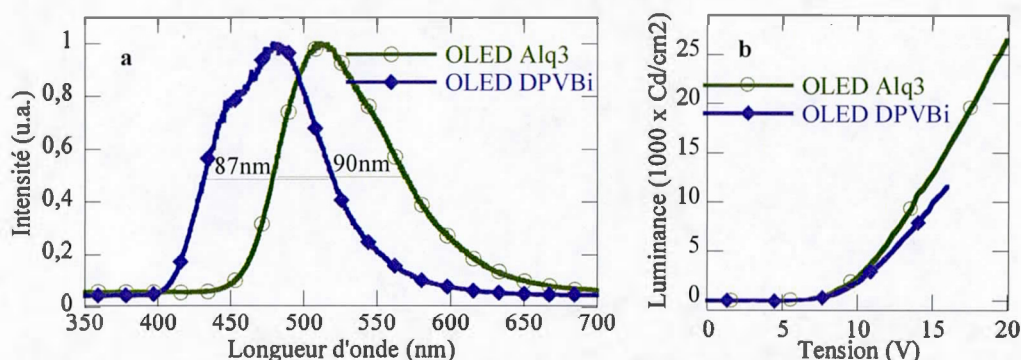
Les caractéristiques d'émission spectrale des deux dispositifs fabriqués de couleurs d'émission différentes sont illustrées dans la figure 4.9. Les spectres d'émission des deux OLEDs sont différents, avec des pics d'émission à 380 nm pour l'OLED bleue et 415 nm pour l'OLED verte. Leur spectre d'émission dépend des matériaux organiques évaporés, dans le cas de l'OLED bleue, la couche d'émission est le DPVBi, et l'Alq<sub>3</sub> est la couche d'émission de l'OLED verte. Nous pouvons voir qu'il est ainsi facile de changer le spectre d'émission en changeant les molécules organiques qui composent l'OLED. Le choix des matériaux organiques des OLEDs s'ajustent facilement en fonction de l'application.

Les OLEDs fabriquées possèdent un spectre d'émission large (figure 4.9.a), avec une largeur spectrale typiquement de 87 nm pour l'OLED DPVBi et 90 nm pour l'OLED Alq<sub>3</sub>. Comparée aux 30 nm de largeur spectrale des LEDs inorganiques commerciales, cette caractéristique est un désavantage sur l'efficacité des dispositifs organiques par rapport aux LEDs inorganiques. Cependant, l'utilisation d'une seule OLED peut servir comme seule source d'excitation sur une gamme plus large d'excitation. La fabrication d'une seule OLED peut servir pour exciter plusieurs fluorophores de spectre d'absorption différents à la fois.

Même si les pics d'émission de l'OLED bleue et verte sont respectivement à 380 nm et 415 nm, les photons émis sont étalés sur une grande partie du spectre visible, allant jusqu'à 700-750 nm. La très grande largeur spectrale a pour conséquence directe, sur la conception du capteur de fluorescence dans notre configuration, de nécessiter l'intégration d'un filtre d'excitation. Ce filtre aura pour rôle de filtrer les photons émis par les OLEDs qui se superposent aux photons de fluorescence qui auraient les mêmes longueurs d'onde. Une quantité non négligeable de photons provenant des OLEDs peuvent recouvrir totalement le signal de fluorescence, empêchant de détecter la fluorescence. Nous montrerons dans la partie 4 sur les caractéristiques des filtres optiques fabriqués que ce problème a été résolu par l'intégration de filtres d'émission.

D'après les courbes intensité-potentiel des dispositifs fabriqués (figure 4.9.b), les dispositifs sont très lumineux, et compensent leur très large émission spectrale par une très grande quantité de photons émis. Celle-ci dépend de la tension de fonctionnement des OLEDs. Les dispositifs fabriqués se sont caractérisés par une luminance de plus de

25 000  $\text{Cd}/\text{m}^2$  pour les OLEDs vertes et plus de 10 000  $\text{Cd}/\text{m}^2$  pour les OLEDs bleues. Ces valeurs sont typiquement largement supérieures aux valeurs utilisées dans nos écrans de télévision d'environ 100  $\text{Cd}/\text{m}^2$ . Cependant, la durée de vie des OLEDs diminue plus rapidement à très forte tension de fonctionnement. Puisque le courant traverse les molécules organiques, il y a une dégradation non négligeable des dispositifs, notamment à très grandes tensions. Pour ces raisons, nous avons testé la durabilité de nos dispositifs et avons mesuré qu'une tension de 12 V pour l'OLED DPVBi (pour une émission de 4 700  $\text{Cd}/\text{m}^2$ ) et de 18 V pour l'OLED Alq<sub>3</sub> (pour une émission de 20 700  $\text{Cd}/\text{m}^2$ ) sont les valeurs limites observées pour avoir une diminution d'émission négligeable sur plusieurs dizaines de pulses qui seront nécessaires aux mesures pour évaluer la présence de polluants.



**Figure 4.9** a. Spectre d'émission des OLEDs verte Alq<sub>3</sub> et bleu DPVBi. b. Courbe I-V des OLEDs vertes Alq<sub>3</sub> et bleues DPVBi fabriquées.

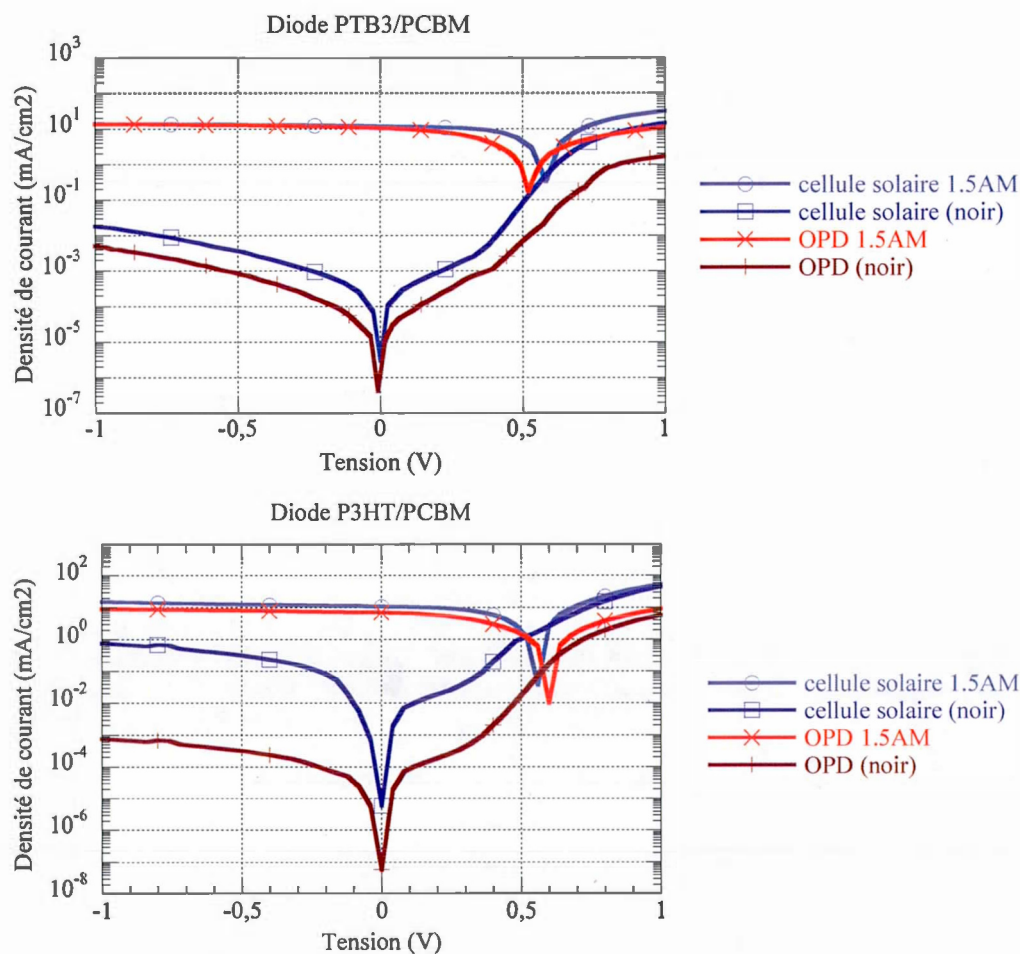
#### 4.4.3 Caractéristiques des OPDs fabriqués

##### 4.4.3.1 Caractéristique I-V

La figure 4.10 montre la comparaison des courbes I-V des diodes optimisées pour les cellules solaires et les OPDs pour les cellules à base de PTB3 et à base de P3HT que nous avons fabriqués au cours de la thèse. Les diodes à base de PTB3 et de P3HT sont des dispositifs photosensibles organiques pouvant à la fois servir de photodétecteurs et de cellules solaires organiques. La méthode de fabrication est la même pour les deux types de dispositif. Cependant, puisque les caractéristiques importantes diffèrent, la structure des couches et leurs



épaisseurs sont différentes. Dans ce travail, les diodes optimisées pour les OPDs n'ont pas de couche de PEDOT-PSS et ont une couche active plus épaisse<sup>3</sup>. Nous verrons à la section 4.4.3.3 pourquoi nous avons changé ces structures. Ces changements ont été faits de manière à améliorer les caractéristiques des OPDs.



**Figure 4.10** Caractéristiques I-V des diodes P3HT/PCBM et PTB3/PCMB fabriquées.

<sup>3</sup> Hormis la diode optimisée pour l'OPD PTB3. Les deux diodes PTB3 (cellule solaire et OPD) ont la même épaisseur de couche active. L'étude de l'épaisseur n'a pas pu se faire à cause de la quantité trop faible (100 mg) de PTB3 à notre disposition.

À partir des courbes I-V des différents composants de la figure 4.10, nous pouvons extraire les différents paramètres relatifs aux différentes applications possibles. Nous les avons regroupés dans les tableaux 4.1 et 4.2.

**Tableau 4.1** Comparaison des paramètres des diodes P3HT/PCBM.

Diode P3HT/PCBM	Caractéristiques cellule solaire				Caractéristiques OPD		
	Voc (V)	Jsc (mA/cm <sup>2</sup> )	FF	$\eta$ (%)	Bruit dans le noir (mA/cm <sup>2</sup> à 0 V)	Ratio signal/bruit (0 V)	EQE (% à 600 nm)
Optimisée pour cellule solaire	0,56	10,88	0,43	2,61	6E-06	2E+06	65
Optimisée pour OPD	0,58	7,14	0,33	1,39	6E-08	1E+08	45

**Tableau 4.2** Comparaison des paramètres des diodes PTB3/PCBM.

Diode PTB3/PCBM	Caractéristiques cellule solaire				Caractéristiques OPD		
	Voc (V)	Jsc (mA/cm <sup>2</sup> )	FF	$\eta$ (%)	Bruit dans le noir (mA/cm <sup>2</sup> à 0 V)	Ratio signal/bruit (0 V)	EQE (% à 685 nm)
Optimisée pour cellule solaire	0,54	11,90	0,57	3,66	3E-06	4E+06	52
Optimisée pour OPD	0,52	10,72	0,35	1,95	4E-07	3E+07	47

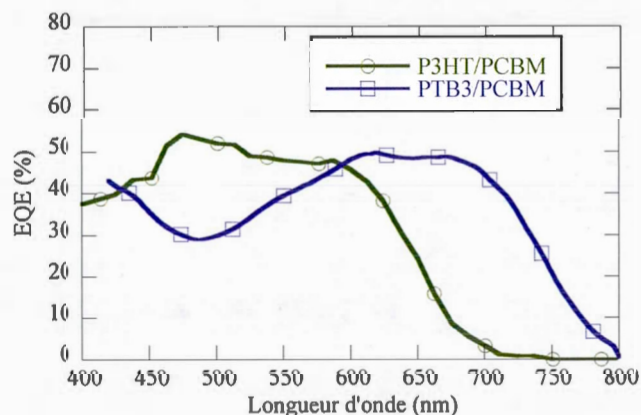
En tant que cellules solaires, les diodes à base de PTB3 et P3HT obtiennent des efficacités respectives de 3,5 % et 2,6 % lors qu'elles sont optimisées pour cette application. Il faut prendre en considération que ces valeurs sont en dessous de ce qu'on obtient dans la littérature (116-118), car d'une part certaines étapes de fabrication se sont faites en dehors de la boîte à gant, et d'autre part les polymères utilisés ont des caractéristiques différentes (masse molaire, pureté...) (119).

Plusieurs caractéristiques des OPDs fabriqués sont à prendre en compte: l'efficacité quantique externe, le bruit, la bande passante, la consommation électrique. Tandis que pour une cellule solaire, l'absorption du spectre solaire, l'efficacité de conversion et la puissance totale extraite sont primordiales. En tant que photodétecteur, la diode photoconductrice doit

avoir un courant dans le noir le plus bas possible, tout en ayant une grande efficacité de conversion des photons incidents (EQE très grand) :

#### 4.4.3.2 Efficacité quantique externe

L'efficacité quantique exprime l'efficacité de conversion de photon incident en courant. Ce paramètre est important pour la photodétection, puisque le moindre photon de fluorescence doit être absorbé puis converti en charges électriques par la photodiode. La figure 4.11 nous montre que les photodétecteurs PTB3 et P3HT ont des EQE respectives de plus de 46 % et 55 %. Nous remarquons que le spectre d'absorption des deux dispositifs est très large. Il s'explique par le fait que les matériaux utilisés ont un grand spectre d'absorption et que la structure de la diode utilisée était au préalable développée pour des cellules solaires. L'EQE est à son maximum entre 450 nm et 650 nm pour la diode P3HT/PCBM, tandis que l'EQE de la diode PTB3/PCBM est supérieure à 40 % entre 550 nm et 720 nm. Leur large bande d'absorption nécessitera l'utilisation de filtre d'excitation pour éviter de saturer les diodes par l'émission des OLEDs. Cependant, comme pour les OLEDs, les deux types de photodiodes organiques peuvent être utilisés pour la détection de plusieurs fluorophores en même temps, il suffira d'intégrer plusieurs filtres optiques comme pour les caméras CCD par exemple.



**Figure 4.11** EQE des diodes P3HT/PCBM et PTB3/PCMB fabriquées.



#### 4.4.3.3 Le bruit

Le bruit est aussi important, puisqu'il est directement lié à la limite de détection des mesures de fluorescence. Plus le bruit interne de la photodiode sera faible, meilleur sera le seuil de détection. Pour la mesure de fluorescence, nous avons voulu fabriquer et utiliser le capteur le plus sensible. Une manière de visualiser le meilleur mode de fonctionnement de la photodiode est de tracer le ratio signal/bruit à une intensité fixe de lumière incidente. À partir des mesures I-V de la figure 4.10, nous constatons que le ratio signal/bruit atteint son maximum à 0 V, atteignant jusqu'à 6 ordres de grandeur pour une intensité de 100 mW/cm<sup>2</sup>. C'est pourquoi nous utiliserons les OPDs à 0 V. À tension de polarisation nulle, le photodétecteur est dans son mode photovoltaïque. La grande sensibilité du capteur provient donc du très faible bruit dans le noir.

Afin d'améliorer les caractéristiques de sensibilité de nos détecteurs, nous avons voulu diminuer le courant dans le noir. La diminution du courant dans le noir peut se faire en ajoutant l'équivalent des résistances internes à l'intérieur de la structure même de la diode. Pour ce faire, nous avons testé deux stratégies : augmenter l'épaisseur de la couche organique et ne pas utiliser de PEDOT-PSS comme pour les cellules solaires. Ces tests ont été faits sur les diodes en P3HT. Les résultats ont été regroupés dans le tableau 4.3 pour l'effet de l'épaisseur de la couche active et dans le tableau 4.4 pour l'effet du PEDOT-PSS.

**Tableau 4.3** Effet de l'épaisseur de la couche organique sur les caractéristiques électriques des diodes.

Effet épaisseur polymère (témoin 87 nm)	Voc	Jsc	Jsc noir	ratio signal/bruit (0 V)
110 nm	xx	-30%	x 0,1	x 10
150 nm	xx	-20%	x 0,1	x 10

Nous observons sur le tableau 4.3 qu'une augmentation de l'épaisseur de la couche active en P3HT/PCBM a eu pour effet une diminution relative du courant de court-circuit. Ce courant de court-circuit étant directement lié à l'EQE (non mesurée de nouveau), nous pouvons affirmer que la variation des épaisseurs en P3HT/PCBM n'a eu quasiment aucun

effet sur l'EQE. Pour autant, le ratio signal/bruit a augmenté d'un facteur 10. Ces résultats corroborent ceux de M. Ramuz et coll. (112) qui a aussi observé que l'augmentation de l'épaisseur améliore considérablement le ratio signal/bruit sans modifier significativement l'EQE. Nous sommes allés plus loin dans l'optimisation des photodétecteurs en évaluant l'effet du PEDOT sur le bruit des diodes dans le noir. Nous avons testé différents PEDOT-PSS, de conductivités différentes, couramment utilisés pour la fabrication d'OLEDs et de cellules solaires. Nous observons sur le tableau 4.4 que plus le PEDOT-PSS est conducteur, plus le bruit dans le noir est grand. Ainsi, en supprimant le PEDOT-PSS du procédé de fabrication nous diminuons sensiblement le courant de court-circuit à la lumière, mais nous diminuons le bruit d'un facteur 10 à 100 par rapport aux diodes avec le PEDOT-PSS.

**Tableau 4.4** Effet du PEDOT-PSS sur les caractéristiques électriques des diodes.

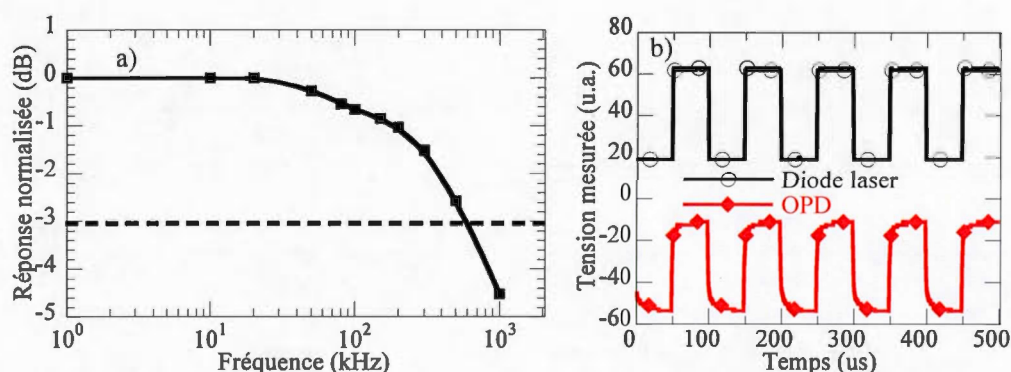
Effet PEDOT-PSS (témoin pedot 4083)	Voc	Jsc	Jsc noir	ratio signal/bruit (0 V)
pedot PH500	-	+37%	x 10	x 0,1
pedot 8000	-	-	x 10	x 0,1
sans pedot	-	-	x 0,1	x 10

En conclusion de ces tests d'optimisation de fabrication des photodétecteurs organiques, la valeur des épaisseurs de la couche active et de l'ajout ou non de la couche de PEDOT-PSS est question d'application, car il est question de compromis entre le bruit dans le noir et l'efficacité du photodétecteur. Pour un photodétecteur très sensible, nous avons choisi l'option de diminuer au maximum le bruit dans le noir, au détriment d'une EQE un peu plus faible.

#### 4.4.3.4 La bande passante de détection

La bande passante d'un photodétecteur est directement liée à la vitesse de fonctionnement de celui-ci. Dépendamment de l'application, le temps de réponse d'un photodétecteur peut être critique, notamment pour voir la cinétique de fluorescence des fluorophores. Nous avons mesuré comme exemple le temps de réponse du photodétecteur à base de PTB3.

La bande passante du photodétecteur a été mesurée à 0 V, tension utilisée pour avoir la meilleure sensibilité (voir section 4.4.3.3). Nous pouvons tracer sur la figure 4.12.a la réponse en fréquence du photodétecteur à partir des mesures prises avec l'oscilloscope sous des pulses de lumière à différente fréquence. La figure 4.12.b montre l'exemple d'une mesure de temps de réponse à la fréquence 1 kHz en fonction du temps. Nous remarquons que le temps de décharge est plus important que le temps de charge. Ce phénomène s'explique en partie par le piégeage de charges dans la couche polymère. À partir de la figure 4.12.a, nous pouvons évaluer la fréquence de coupure à -3 dB de notre photodétecteur à 500 kHz. Cette fréquence est faible pour une utilisation à haute fréquence, mais amplement suffisante pour la quantification de fluorescence dans la plupart des applications. Notamment, la rapidité de réponse de notre photodétecteur sera suffisante pour être utilisée à 1 kHz pour les futures mesures de fluorescence des algues vertes.



**Figure 4.12** a. Réponse en fréquence de la diode PTB3/PCBM. b. Temps de réponse de la diode PTB3/PCBM sous des pulses lumineux à 1kHz.

Le temps de réponse du photodétecteur organique peut être diminué en polarisant négativement le photodétecteur comme l'a montré Peumans sur des photodétecteurs à base de CuPc (111). La polarisation des photodiodes permet d'utiliser les photodétecteurs organiques pour des applications à très grande vitesse d'utilisation. Cependant, l'augmentation de la vitesse se fait au détriment d'une augmentation du bruit dans le noir.

En conclusion, les propriétés de nos photodétecteurs peuvent se résumer dans le tableau 4.5, par rapport à d'autres types de photodétecteurs fabriqués dans la littérature. La fabrication et le mode de fonctionnement des photodétecteurs organiques peuvent s'ajuster facilement en fonction des propriétés nécessaires aux applications futures.

**Tableau 4.5** Caractéristiques des photodétecteurs organiques.

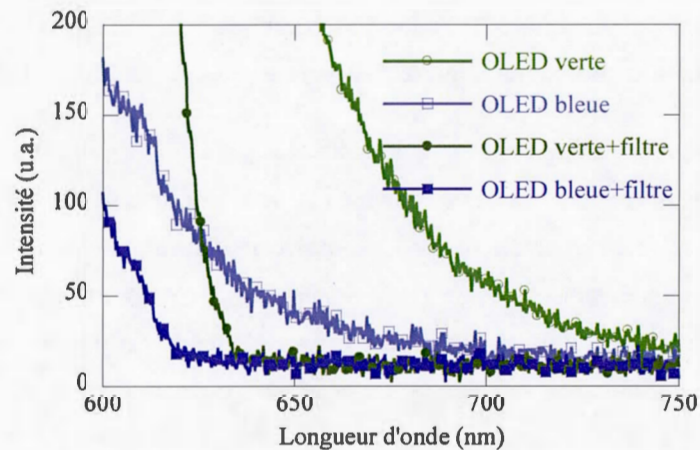
	Peumans, P. et coll. (111)	Ramuz, M. et coll. (112)	Dans cette thèse	
Type	Empilement couches petites molécules	PEDOT-PSS P3HT/PCBM 230 nm	P3HT/PCBM 200 nm	PTB3/PCBM
$EQE_{max}$	> 75% (550 – 670 nm) à -9 V	> 70% (450 – 620 nm) à 0 V	--	> 40% (550 à 720 nm) à 0 V
$J_{noir}$ (mA/cm <sup>2</sup> )	12E-3	1E-7	1,2E-8	<1E-7 <sup>4</sup>
$V_{bias}$ (V)	-9 V	0 V	0 V	0 V
Vitesse ( $f_{3dB}$ )	Très rapide (430 MHz)	Peu rapide (62 KHz)	--	Rapide (500 kHz)

#### 4.4.4 Caractéristiques des filtres optiques fabriqués

Dans la présente configuration, les OLEDs ont été alignés avec les OPDs dans le but de maximiser le signal de fluorescence. Cependant, dans cette configuration, le dispositif nécessite un filtre d'excitation et un filtre d'émission. D'une part, le filtre d'émission est nécessaire, car les photons résiduels, non absorbés par les espèces de phytoplanctons, peuvent être détectés par les photodétecteurs. Le filtre d'excitation empêche donc que la source d'excitation se chevauche sur l'émission de fluorescence des fluorophore. D'autre part, comme nous pouvons le voir sur la figure 4.13, nous pouvons observer une émission de

<sup>4</sup> La mesure de bruit s'est trouvée dans la gamme de bruit de l'appareil de mesure (keithley 2400), une mesure plus précise pourrait être faite avec un appareil plus précis comme pour les mesures de bruit des diodes P3HT/PCBM (avec le keithley 2601a).

photons non négligeable à très forte intensité même pour des longueurs d'onde supérieures à 650 nm. Afin de couper l'émission des OLEDs dans la région de fluorescence, un filtre d'émission est nécessaire. Comme le montre la figure 4.13, un filtre d'émission (Edmont Optic,  $f_c = 650$  nm) atténue fortement l'émission des OLEDs à partir de sa fréquence de coupure.



**Figure 4.13** Caractéristiques spectrales entre 600 et 750 nm des OLEDs DPVBi et Alq<sub>3</sub> fabriquées avec et sans filtre d'excitation interférentielles ( $f_c = 650$  nm).

Une faible autofluorescence, une grande transmittance pour les longueurs d'onde désirées, associées à une grande atténuation des longueurs d'onde non voulues et un faible coût de fabrication sont autant de propriétés nécessaires que doivent posséder les filtres optiques pour être intégrés..

Pour un dispositif à faible coût, les filtres par interférence ne sont pas adaptés, car sont trop cher à fabriquer. Ils nécessitent le design et le dépôt par pulvérisation sous vide de plusieurs couches de matériaux. Le prix est d'autant plus cher que les couches déposées doivent avoir une épaisseur précise. De plus, les filtres interférentiels disponibles commercialement sont généralement fabriqués sur les substrats en quartz de 1 à 5 mm d'épaisseur. Cette épaisseur diminue fortement le couplage optique entre la source d'excitation, la chambre de détection et le détecteur.



La filtration par polarisation, bien que très abordable, pêche dans l'absorption trop importante des filtres, supérieure à 60 %. Leur utilisation, bien que prouvée (107), n'est pas l'idéale pour une détection sensible de fluorescence. La trop grande absorption de la source d'émission peut être déterminante sur des mesures qui nécessitent beaucoup de photons incidents, comme nous le verrons pour la fluorescence des phytoplanctons. Enfin, la filtration par polarisation peut nécessiter l'utilisation de filtres d'absorption supplémentaires suivant l'application. C'est pourquoi la filtration par absorption peut être une alternative peu coûteuse et adaptée pour les mesures de fluorescence dans les puces microfluidiques.

Les filtres d'absorption à base de matériaux organiques sont fabriqués par ajout d'un colorant ou pigment dans une résine polymère. Tous les différents types de colorants (solvant – aqueux) et pigments pourraient servir de molécule d'absorption. L'utilisation de colorants permet de moduler plus facilement les caractéristiques d'absorptions et de transmissions spectrales des filtres (120). Il existe deux façons d'intégrer la filtration par absorption dans les puces microfluidiques. D'une part, les colorants peuvent directement être ajoutés dans le matériau polymère de la puce elle-même. L'exemple d'intégration de colorants organiques directement dans le PDMS de la puce microfluidique est un très bon exemple (121). Cependant, il n'a pas été choisi, car il a été difficile de trouver des colorants solubles dans un solvant apolaire. De plus, certaines applications, dont celles avec des organismes vivants pourraient être sensibles à la toxicité des colorants utilisés qui aurait été en contact avec les microorganismes. Pour toutes ces raisons, nous avons décidé de fabriquer des filtres optiques, à base de colorant dans une résine, qui puissent facilement se fabriquer par tournette, dont la fabrication est dissociée de la fabrication de la puce elle même. L'intégration de ces filtres est donc hétérogène.

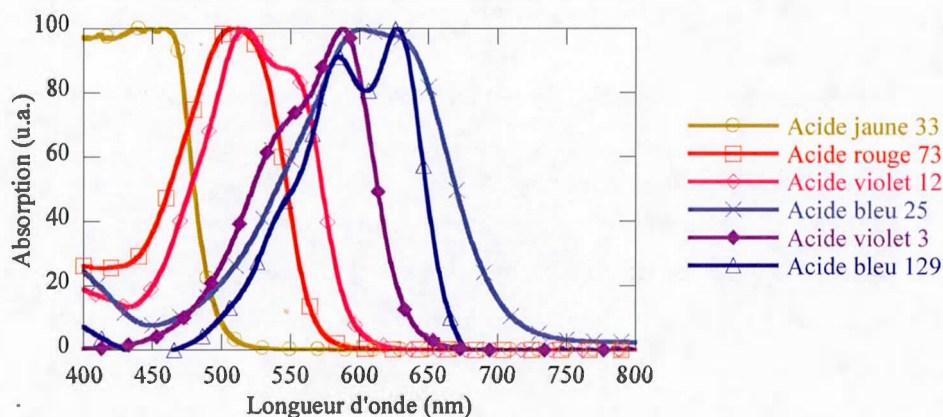
#### 4.4.4.1 Filtre à base de colorants

Les colorants utilisables doivent avoir un grand coefficient d'absorption aux longueurs d'onde désirées, être soluble dans la résine, ne pas auto-fluorescer et surtout ne doivent pas se dégrader à la lumière. Parmi les colorants disponibles, il existe les colorants acides et basiques solubles dans l'eau et les colorants organiques solubles dans les solvants. Beaucoup de ces colorants existent commercialement pour diverses applications (l'alimentation, le textile, automobile...). Pour des raisons de disponibilité, nous avons privilégié en majorité



des colorants solubles dans l'eau. Très utilisés dans l'industrie textile, ils possèdent un grand coefficient d'absorption.

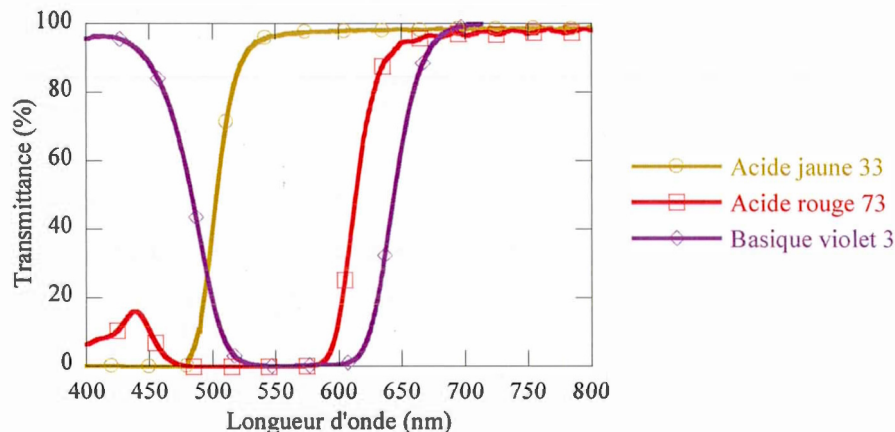
La figure 4.14 montre les spectres d'absorption des différents colorants acides et basiques qui ont été testés pour la fabrication des filtres. Comme nous pouvons le constater, les colorants recouvrent l'intégralité du spectre visible et se désignent par leurs noms de couleur suivis d'un numéro. Il ne nous a pas été possible de trouver des colorants avec des pics d'absorption supérieure à 650 nm. En effet, les colorants ont majoritairement été développés pour le visible. Nous remarquons aussi que pour une même couleur, les colorants ont des spectres d'absorption différents bien qu'ils absorbent bien la même couleur complémentaire. Par exemple, pour du jaune, le colorant absorbe majoritairement les longueurs d'onde dans le bleu. Le fait que pour une même couleur, les spectres d'absorption peuvent être plus ou moins larges, ou avoir une pente d'absorption différente, ou avoir un décalage de 10 nm, cela offre beaucoup plus de possibilités pour la fabrication de filtres aux caractéristiques différentes.



**Figure 4.14** Spectre d'absorption de colorants aqueux (incorporés dans un film de gélatine, 100 nm d'épaisseur).

La figure 4.15 montre trois exemples de filtres d'absorption à base de colorant solubles dans l'eau. Les caractéristiques d'absorption de ces filtres dépendent des longueurs d'onde d'absorption du colorant. Il est donc facilement possible de moduler les

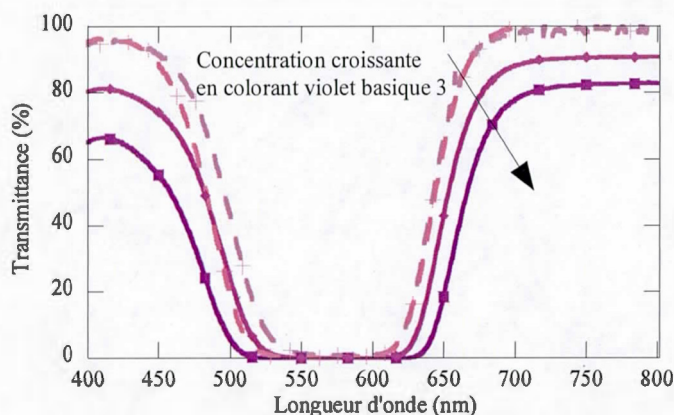
caractéristiques d'absorption spectrale d'un filtre en choisissant les colorants au préalable par rapport à leur spectre d'absorption. Bien que les filtres de la figure 3, dont l'atténuation se situe entre 1 dB et 10 dB, répondent parfaitement pour une application d'éclairage par exemple, ils ne sont pas optimisés pour les mesures de fluorescence. En effet, des atténuations de 40 dB sont nécessaires pour pouvoir filtrer entièrement les photons incidents aux très fortes intensités de fluorescence.



**Figure 4.15** Spectres normalisés de transmittance de filtres d'absorption à base de colorants aqueux dans de la gélatine (100 nm d'épaisseur).

La figure 4.16 montre différents spectres de transmittance des filtres à base de violet basique 3 pour différentes concentrations avec les spectres d'atténuation correspondant. En augmentant la concentration en colorant dans le filtre, nous améliorons l'absorption pour les longueurs d'onde désirées. Cependant, cela se fait au détriment d'une diminution de la transparence pour les longueurs d'onde passantes. De plus, nous observons une diminution plus importante de la première pente d'absorption (autour de 475 nm), par rapport à la deuxième pente d'absorption (650 nm). Ce phénomène est caractéristique de tous les colorants que l'on a utilisés. À très forte concentration en colorant, les filtres ont une trop grande absorbance vers 400-500 nm. En somme, l'utilisation de colorants permet de fabriquer des filtres passe-haut, caractéristiques des filtres d'émission avec des atténuations de plus de 40 dB et une transparence de plus de 80 %. Cependant, les filtres coupe-bande (par

exemple avec le colorant basique violet 3) ont seulement des transparences de 60 % et moins pour les longueurs d'onde passantes. Enfin, il n'a pas été possible de fabriquer des filtres passe-bas, puisque nous n'avons pas eu à disposition des colorants qui absorbaient au-delà de 650 nm. C'est dans l'optique d'avoir des filtres d'absorption de type passe-bas que nous avons aussi étudié la fabrication de filtre à base de pigments et de complexe métalliques.

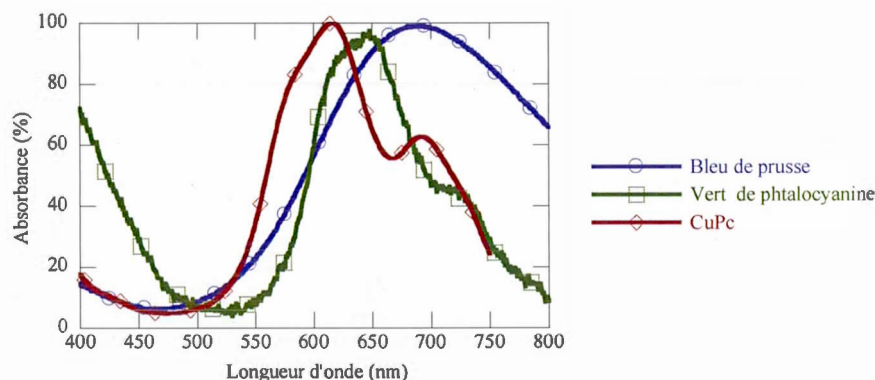


**Figure 4.16** Spectre de transparent des filtres à base de violet basique 3 à différentes concentrations en colorants.

#### 4.4.4.2 Filtres à base de pigments

Les pigments, contrairement aux colorants, sont des molécules organiques insolubles dans les solvants aqueux ou organiques. Ils sont néanmoins très utilisés comme encre d'impression, car ils ont un très grand coefficient d'absorption. Les pigments peuvent se disperser à l'aide de surfactants, ils peuvent se mélanger dans une résine adéquate ou bien peuvent directement s'évaporer sous vide. Parmi toutes les couleurs disponibles, nous avons testé les pigments qui avaient une absorption au-delà de 600 nm pour compléter les filtres d'absorption à base de colorants. Leurs spectres d'absorption sont représentés sur la figure 4.17. Tout comme les colorants, les pigments ont des spectres d'absorption très distincts et permettent la fabrication de filtres optiques différents. Cependant, les filtres à base de pigments ont deux inconvénients. Le premier est leur très grande autofluorescence. Puisque les molécules sont isolées spatialement, car insolubles, elles ont du mal à évacuer le

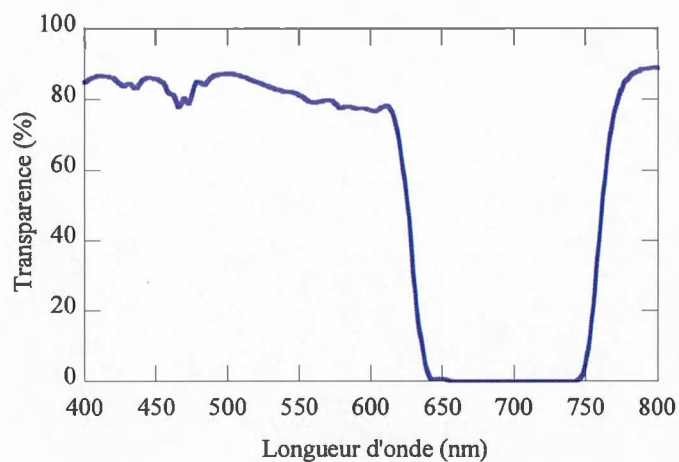
surplus énergétique absorbé par des phénomènes non radiatifs. Ce problème peut être cependant résolu en ajoutant une autre molécule qui récupérerait ce surplus énergétique tel que l'ont montré Yamazaki et coll. (90). Le deuxième inconvénient est le même que les colorants, à forte concentration de pigment les filtres fabriqués absorbent plus de 40 à 60 % dans les petites longueurs d'onde. Ainsi, ils ne peuvent pas être utilisés comme filtres coupe-bande ou passe-bas des filtres d'émission.



**Figure 4.17** Spectre normalisé d'absorption de pigments (film évaporé).

#### 4.4.4.3 Filtres à base de complexe métalliques

Un troisième type de molécules capables d'absorber des longueurs d'onde spécifiques est les complexes métalliques. Les complexes métalliques sont généralement déposés par pulvérisation sous vide. Cependant, l'achat de ce type de filtres sur des plaques de quartz très mince revient très cher. Ainsi, nous avons voulu tester la fabrication de filtre à base de complexe métallique qui peut se fabriquer par tournette. L'exemple du complexe  $(TOMA)_2CoBr_4$  est un très bon exemple de complexe métallique dans une résine visqueuse qui peut se déposer par tournette. La figure 4.18 montre son spectre d'absorption. Nous sommes capables, grâce à ce type de résine, de fabriquer un filtre coupe-bande qui absorbe seulement 10 à 20 % des longueurs d'onde passantes. Nous verrons aussi dans le chapitre suivant que ce type de filtre a une atténuation de plus de 40 dB pour les longueurs d'onde désirées et peut donc très bien être utilisé pour les mesures de fluorescence.



**Figure 4.18** Spectre de transparence du filtre optique d'absorption à base de  $(\text{TOMA})_2\text{CoBr}_4$ .

#### 4.5 Conclusion

En conclusion, nous avons proposé une géométrie de fabrication de capteur de fluorescence à base de dispositifs organiques dans une puce microfluidique. Celle-ci a été choisie pour maximiser le signal de fluorescence en tenant compte des contraintes géométriques de chaque composant. Nous avons par la suite montré comment fabriquer les différents composants d'un capteur de fluorescence à base de dispositifs organiques. Nous avons montré, par de nombreux exemples pour chaque composant du dispositif, qu'il est facilement possible de choisir et de les optimiser en fonction des applications futures.







## CHAPITRE V

### MESURE DE TOXICITÉ PAR FLUORESCENCE DANS UNE PUCE MICROFLUIDIQUE

#### 5.1 Introduction

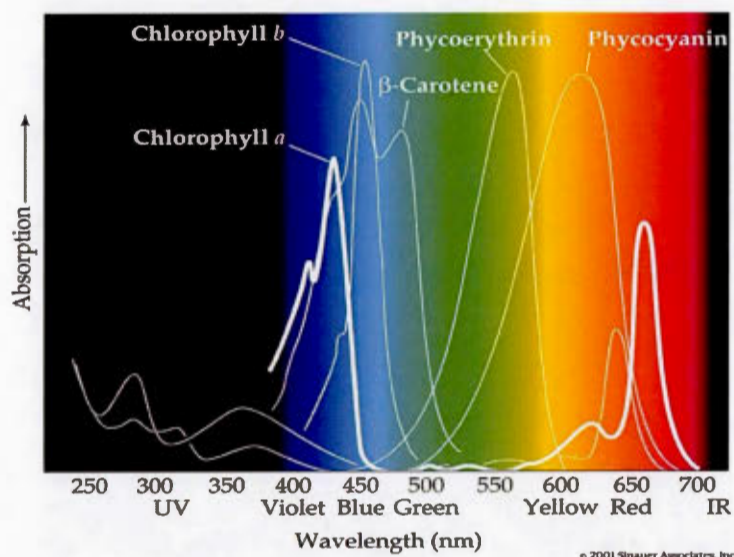
Nous avons présenté au début de la thèse qu'il existe un besoin urgent d'intégration de capteur, dont les capteurs optiques, pour mesurer la toxicité de l'eau sur le terrain. Aucun capteur optique miniature n'a été développé jusqu'à notre preuve de concept (3). Nous allons présenter dans ce chapitre la preuve de concept que les dispositifs organiques peuvent mesurer la fluorescence d'organismes vivants. Nous démontrerons que notre capteur de fluorescence permet de mesurer leur variation de cinétique de fluorescence qui est la signature optique de l'état de santé des micro-algues et des cyanobactéries. Nous utiliserons ce capteur de fluorescence pour détecter la présence d'un herbicide, le diuron.

Nous avons montré dans le chapitre précédent comment concevoir un capteur de fluorescence dans une puce microfluidique à base de dispositifs organiques. Nous allons présenter dans ce chapitre la conception du capteur de fluorescence à base de dispositifs organiques pour mesurer la fluorescence des micro-algues et cyanobactéries dans une puce microfluidique. Plus précisément, nous verrons que tous les composants ont spécialement été choisis en fonction des caractéristiques propres à la fluorescence des micro-algues vertes *Chlamydomonas reinhardtii* (CC125). Ainsi, le capteur, composé d'une OLED bleue à base de DPVBi, du photodétecteur organique à base de PTB3/PCBM et de filtres optiques d'absorption a permis non seulement de détecter des concentrations en algue CC125 de 250 000 cell/mL, mais aussi de mesurer directement la cinétique de fluorescence de ces microorganismes. Enfin, nous montrerons que notre dispositif à base de phytoplancton a été capable de mesurer la présence de diuron, à des concentrations aussi faibles que 1.1 nM.

## 5.2 Procédure expérimentale

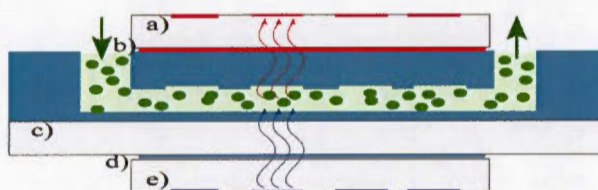
### 5.2.1 Design et choix des composants du capteur de fluorescence

Les micro-algues et cyanobactéries sont des microorganismes qui possèdent tous de la chlorophylle, mais se distinguent par leur composition en pigment d'antennes. Notamment, les cyanobactéries possèdent spécifiquement de la phycoérythrine ou de la phycocyanine, tandis que les micro-algues rouges possèdent en particulier de la phycocyanine. La figure 5.1 représente les spectres d'absorption des antennes. Les phytoplanctons possèdent donc plusieurs régions d'absorption en fonction de leur composition d'antennes qui est propre à chaque espèce. La chlorophylle *a* possède deux pics d'absorption (vers 640 nm et 660 nm), la phycocyanine et la phycoérythrine ont un pic d'absorption vers 560 nm et 610 nm. La caractéristique propre aux espèces de phytoplanctons est que tout l'excès d'énergie absorbée par ces microorganismes est transmis à la chlorophylle *a*. Par conséquent, seule la chlorophylle *a* émet de la fluorescence. Cette propriété a pour conséquence que les phytoplanctons ont juste un pic de fluorescence centré à 685 nm. Un capteur de fluorescence qui mesurerait la fluorescence de toutes les espèces de phytoplanctons serait ainsi composé de plusieurs OLEDs de différentes couleurs afin d'exciter les différents pigments présents chez ces microorganismes. Tandis qu'un seul type de photodétecteur, avec son pic de réponse à 685 nm, serait nécessaire pour mesurer la fluorescence des espèces de phytoplanctons. Dans ce chapitre, nous allons présenter les mesures faites avec l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii* (CC125). Comme preuve de concept de mesure de fluorescence de cette espèce de phytoplancton, nous avons fabriqué un capteur de fluorescence avec une seule source d'émission, une OLED bleue, et un seul photodétecteur organique à base de PTB3.



**Figure 5.1** Spectre d'absorption des différents pigments des espèces de phytoplanctons (122).

Le capteur de fluorescence dans une puce microfluidique a été fabriqué selon le design décrit dans le chapitre précédent. Ce capteur est représenté dans sa coupe transversale sur la figure 5.2. Il a été composé de sources d'émission avec les OLEDs, de capteurs avec les OPDs, d'une puce microfluidique avec de part et d'autre les filtres optiques d'absorption.



**Figure 5.2** Coupe transversale du capteur de fluorescence à base de dispositif organique pour la mesure de fluorescence des algues vertes. L'OLED bleue (e), placée en dessous de la puce microfluidique, excite les algues injectées dans la puce, l'émission de fluorescence des algues est captée par le photodétecteur organique (a) directement placé au-dessus de la puce. De part et d'autre de la puce microfluidique sont insérés les filtres optiques d'émission (d) et d'excitation (b).

### 5.2.2 Fabrication du capteur de fluorescence

La puce microfluidique en PDMS a été fabriquée par les techniques de lithographie douce (65). Un moule a été fabriqué à partir de la résine SU8-2150 (Microchem®) sur une gaufre de silicium. Ce moule contient les motifs qui serviront à fabriquer les canaux et les chambres de détection de 1 mm d'épaisseur. La partie supérieure des canaux est réalisée en moulant du PDMS sur les motifs en SU8. Une fois réalisée, cette section a été collée sur une plaque de verre de 1mm, recouverte de PDMS non réticulé et déposée par tournette à 4000 rpm afin d'obtenir des canaux PDMS-PDMS. La puce microfluidique se comporte plusieurs chambres de détection (jusqu'à 16 dans notre design) de 1 mm d'épaisseur et 4 x 3 mm de dimension.

Les dispositifs organiques ont été fabriqués à partir d'une plaque de verre sur laquelle a été prédéposée une couche d'ITO ( $15 \Omega/\square$  de qualité OLED). Les OLEDs et OPDs de  $3 \times 3 \text{ mm}^2$  sont fabriquées sur les substrats d'ITO nettoyés et traités au plasma d'oxygène. Les OLEDs bleues ont été fabriquées en prenant la même structure que C.J. Huang et coll. (115). Les couches NPB (50 nm), DPVBi (30 nm), BCP (5 nm) et Alq<sub>3</sub> (35 nm), ont été successivement déposés thermiquement à 1-2 Å/s dans un évaporateur sous vide ( $2 \times 10^{-6}$  Torr). Les couches de LiF (1 nm) et d'aluminium (100 nm) ont été déposées par-dessus les couches organiques dans le même évaporateur après avoir changé de masque d'évaporation (nécessitant de casser le vide). Les OPDs ont été fabriqués à partir du polymère conducteur PTB3,(116) synthétisé et gracieusement offert par le groupe de Luping Yu à Chigago. Pour ce faire, la couche active a été préparée à partir d'un mélange 1 :1 de PTB3 et PCBM dans du chlorobenzène avec 3 % en volume de 1,8-diiodooctane. La mixture a été déposée sur la plaque d'ITO par tournette (700 rpm pendant 1 min). Comme pour les OLEDs, une couche de 1 nm de LiF et 100 nm d'aluminium ont été évaporés sous vide pour compléter les dispositifs. Tous les dispositifs organiques ont été encapsulés sous boîte à gant ( $[\text{O}_2] < 1 \text{ ppm}$ ,  $[\text{H}_2\text{O}] < 1 \text{ ppm}$ ) avec une plaque de verre de 1 mm scellé avec une colle époxy réticulée sous UV.

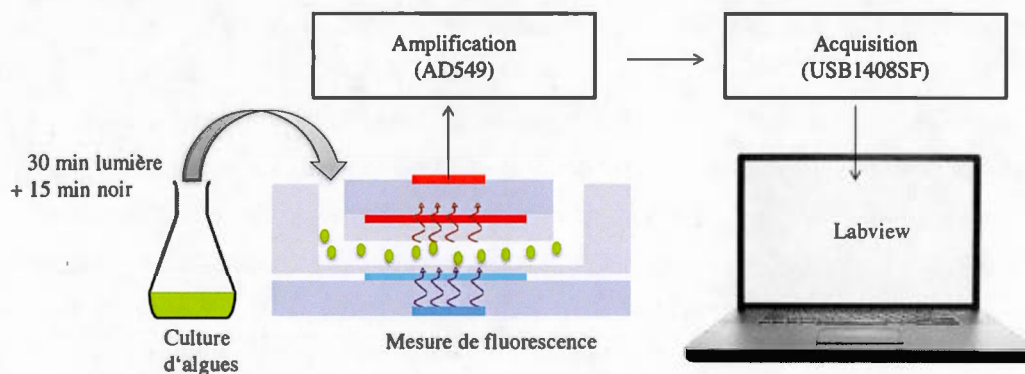
Le filtre d'émission se compose de plusieurs colorants acides/basiques. L'acide jaune 34, l'acide rouge 73 et le violet basique 3 de concentrations respectives 20, 20 et 10 mg/mL ont été mixés dans de la gélatine de poisson. Quelques gouttes de glycérol ont été ajoutées

pour augmenter la durée de vie des filtres, qui se déshydratent au court du temps. Chaque mélange a été successivement déposé par tournette l'un sur l'autre sur une plaque de verre de 100  $\mu\text{m}$  d'épaisseur. Le filtre d'excitation a finalement été fabriqué à partir d'un composant coloré et visqueux  $(\text{TOMA})_2\text{CoBr}_4$  synthétisé d'après L.F. Warren et coll. (67), qui a été déposé entre deux plaques de verre de 100 $\mu\text{m}$  d'épaisseur et scellé par de l'époxy pour le protéger de l'humidité.

### 5.2.3 Mesure de fluorescence

À partir d'une culture d'algues vertes *Chlamydomonas reinhardtii* (CC125) de  $1,0 \times 10^6$  cell/mL, cultivée telle que décrit dans le chapitre 2, plusieurs concentrations différentes de phytoplanctons sont injectées dans la puce microfluidique à l'aide d'un pousse seringue (NE-300, New ERA pump systems Inc. USA). Préalablement aux mesures de fluorescence, les phytoplanctons ont été laissés dans le noir 15 min afin de réoxyder les centres de réaction du photosystème II.

Les mesures de fluorescence ont été faites à l'aide d'un montage fait au laboratoire (figure 5.3), contrôlé par un programme écrit sous Labview afin de contrôler les appareils. L'OLED est allumée grâce à une source de tension (Keithley 2400). L'OPD est utilisé à polarisation nulle, le photocourant généré est directement amplifié et converti en tension par un amplificateur opérationnel (Analog Devices AD549). La tension générée est ensuite lue par le port tension d'une carte d'acquisition (USB-1408FS) à une fréquence de 1 kHz.



**Figure 5.3** Schéma de mesure de fluorescence dans la puce microfluidique.

#### 5.2.4 Mesure de toxicité de l'herbicide diuron

Les mesures ont été faites à partir d'une culture d'algues vertes *Chlamydomonas reinhardtii* (CC125) de  $1.0 \times 10^6$  cell/mL, cultivée telle que décrite dans le chapitre 2. Différentes concentrations de Diuron ont été préparées dans le l'éthanol pur. Pour chaque mesure, 30  $\mu$ L de Diuron a été mélangé à 2 mL d'une solution de phytoplancton. Les mélanges ont été laissés sous incubation de lumière d'une intensité de  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  pendant 30 min avant les mesures de fluorescence. Préalablement aux mesures de fluorescence, les phytoplanctons ont été laissés dans le noir 15 min afin de réoxyder les centres de réaction du photosystème II. Chaque mesure a été faite en triplicata.

Le système Handy-PEA (Hantsatech, King's Lynn, UK) a servi d'appareil commercial témoin. 2 mL de solution de phytoplancton est injecté dans le réservoir de 3 mL. Un pulse de lumière rouge de  $3\,500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  illumine les phytoplanctons. La fluorescence émise est détectée toutes les 1  $\mu$ s.

### 5.3 Résultats et discussion

#### 5.3.1 Caractéristiques du capteur intégré

La figure 5.4 montre plusieurs photos du capteur de fluorescence qui a été intégré dans la puce microfluidique. L'intégration a été faite de manière hétérogène puisque chaque composant a été fabriqué sur des substrats séparés avant d'être assemblés ensemble. Nous constatons que le dispositif complet est très mince, plat et qu'il intègre plusieurs chambres de détection sur le même plan. En effet, l'épaisseur totale du dispositif dépend essentiellement de l'épaisseur des substrats utilisés comme support mécanique pour la fabrication des composants, de l'ordre de 1 mm pour la plaque de verre de la puce microfluidique et de 1.1 mm pour le support en verre + ITO des dispositifs organiques. Ainsi, l'épaisseur totale du dispositif est d'environ 4 mm, ce qui par comparaison est plus mince qu'une clef USB. Les dimensions du capteur en surface sont de  $5 \text{ cm}^2$ , elles dépendent essentiellement du nombre de chambres de détection que l'on veut inclure et de leurs tailles. Dans notre cas, les dispositifs organiques ont inclus 24 éléments actifs sur une même plaque qui peut être utilisée avec des puces microfluidiques qui contiennent de 8 à 24 chambres de détection. Nous



constatons ainsi que les dispositifs organiques associés à la microfluidique sont une solution viable pour intégrer plusieurs chambres de détection sur une même puce.



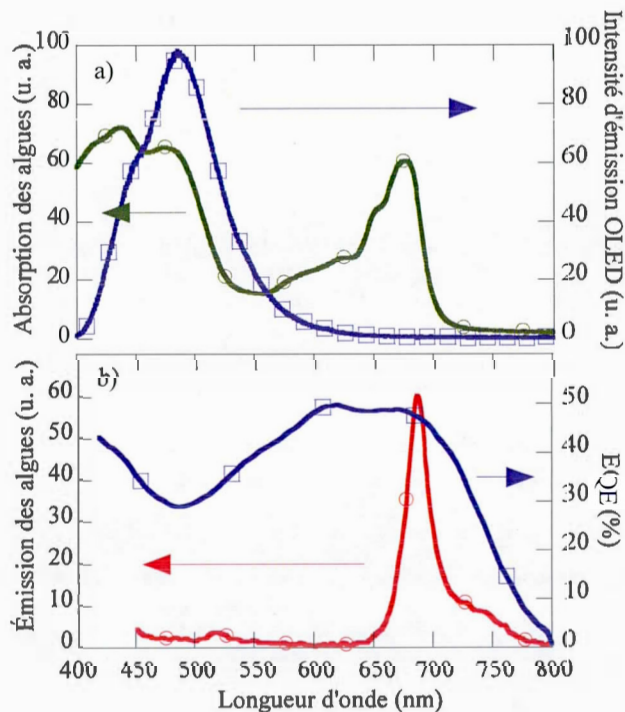
**Figure 5.4** Photos du dispositif de fluorescence.

Comme on peut le voir sur la figure 5.5.a, les algues vertes ont deux régions d'absorption vers 400-500 nm et 650-680 nm. Cette absorption est essentiellement due aux chlorophylles *a* et *b*, et aux caroténoïdes. Les algues vertes ont seulement un pic d'émission situé autour de 685 nm sur la figure 5.5.b. Tout l'excès d'énergie absorbée par les pigments de l'espèce de phytoplanctons et qui n'est pas converti en chaleur est transmis à la chlorophylle *a* et seulement la chlorophylle *a* émet de la fluorescence (entre 680 nm et 720 nm).

D'après la figure 5.5.a, il y a deux possibilités d'exciter les algues vertes, vers 400-500 nm et vers 650-680 nm. Le choix d'une OLED bleue offre deux avantages préférentiels par rapport à une OLED rouge. D'une part, considérant la grande largeur spectrale des OLEDs (environ 90 nm), l'OLED bleue est plus efficace. En effet, pour une OLED rouge, le filtre optique (filtre d'excitation) que l'on a besoin pour éviter l'OLED ne recouvre le signal de fluorescence coupera la moitié du pic d'absorption dans le rouge. D'autre part, le choix d'une OLED bleue, dont le pic d'émission est très éloigné du pic d'émission de fluorescence, permet l'utilisation de filtre d'absorption avec des pentes d'absorption moins étroites que les filtres interférentiels. Ces deux raisons justifient le choix d'une OLED bleue à base de DPVBi pour la fluorescence des algues vertes. Nous confirmons à l'aide de la figure 5.5.a que le spectre d'émission de l'OLED DPVBi recouvre en partie le spectre d'absorption des algues vertes. Comme nous l'avons présenté dans le chapitre précédent, les OLEDs DPVBi peuvent avoir une luminescence de plus de 10 000 Cd/m<sup>2</sup>, cependant pour des raisons de durée de vie, nous nous sommes limités à opérer les OLEDs avec des pulses de 12 V

correspondant à une intensité lumineuse de  $4\,700\text{ Cd/m}^2$ . Dans ces conditions, nous n'avons pas observé de diminution d'intensité au cours des expériences.

Un photodétecteur à base de PTB3 a servi de capteur de fluorescence organique pour nos expériences. Ce photodétecteur, dont la fabrication est la même que pour le chapitre précédent, possède aussi les mêmes caractéristiques présentées auparavant. Ainsi, comme on peut le voir sur la figure 5.5.b, l'OPD a son maximum de photoréponse entre 600 et 700 nm, recouvrant totalement le pic d'émission des algues vertes, centré à 685 nm. D'ailleurs, le photodétecteur possède une réponse de plus de  $0,26\text{ A/W}$  (correspondant à une  $\text{EQE} = 47\%$ ) à 685 nm, alors que le courant dans le noir est aussi faible que  $1\text{ nA/cm}^2$ . Sa fréquence maximale d'utilisation (figure 4.12.a) de 500 kHz est bien au-dessus de la fréquence utilisée durant nos expériences. Cette caractéristique situe ce dispositif parmi les dispositifs organiques les plus sensibles par rapport à la littérature pour cette gamme spectrale (98, 99).



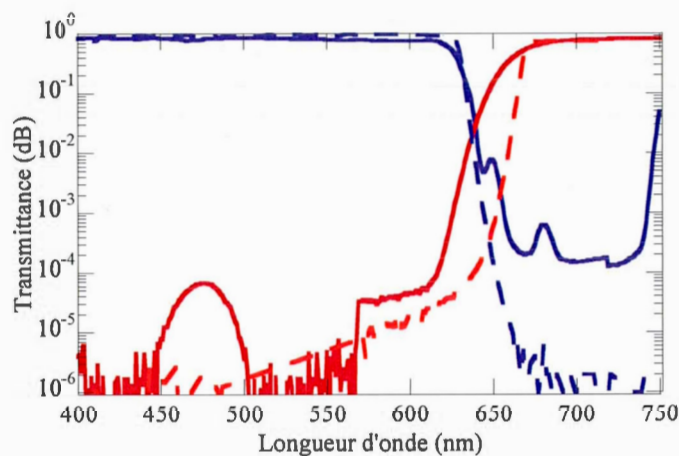
**Figure 5.5** a. Spectre d'absorption des algues vertes CC125 avec l'émission de l'OLED DPVBi en fonction des longueurs d'onde. b. Spectre d'émission des algues vertes CC125 avec l'EQE du photodétecteur PTB3 en fonction des longueurs d'onde.

Comme nous l'avons expliqué dans le chapitre précédent, la configuration géométrique du capteur a nécessité l'intégration de filtres d'excitation et d'émission.

Nous avons ainsi utilisé pour la fabrication du filtre d'absorption trois colorants, l'acide jaune 34, l'acide rouge 73 et le violet basique 3, dont leurs spectres d'absorption sont illustrés dans la figure 4.14. Ces trois colorants possèdent respectivement des pics d'absorption à 440 nm, 515 nm et 590 nm. À partir des épaisseurs déposées et des concentrations des colorants ajoutés, nous avons obtenu un filtre d'émission de type passe-haut avec une transmission de coupe de 667 nm et une transmittance de plus de 75 % pour le pic d'émission de fluorescence (685 nm).

Une approche différente a été choisie pour le filtre d'excitation, qui se situe entre les OLEDs et les chambres microfluidiques, puisque les caractéristiques d'absorption désirées entre 650-750 nm n'ont pas pu être respectées sans avoir une trop grande absorption des colorants entre 400 et 500 nm. Nous avons résolu le problème en utilisant une résine à base d'un complexe métallique qui absorbe fortement entre 650 et 700 nm, tout en ayant une très grande transmittance dans la région 400-500 nm. Nous avons réussi à fabriquer un filtre d'excitation à base de  $\text{Co}^{2+}$  à partir du composé  $(\text{TOMA})_2\text{CoBr}_4$ . Avec une longueur d'onde de coupure de 626 nm, nous avons ainsi obtenu un filtre d'excitation, de type pass-court, avec plus de 80 % de transmittance dans la région 400-500 nm.

Au final, les filtres à base de résine colorée ont conjugué à la fois une très grande absorbance dans les régions de longueur d'onde désirées et une grande atténuation dans les régions non désirées. Ses caractéristiques sont comparables à celles de filtres par interférence commerciaux, tel que le montre la figure 5.6. Seules les pentes d'atténuation des filtres fabriqués n'ont pas été aussi prononcées que les filtres commerciaux. Cependant, dans le cadre de notre application, où les longueurs d'onde d'excitation (400-500 nm) sont très éloignées des longueurs d'onde d'émission (680-700 nm), les caractéristiques de nos filtres fabriqués ont suffi et ont correspondu aux exigences de l'application. Ainsi, la forte atténuation des filtres a suffi et n'a pas nécessité l'intégration de polariseur comme cela a pu être le cas dans d'autres publications (100).



**Figure 5.6** Comparaison en l'atténuation des filtres optiques d'absorption (ligne pleine) et d'interférence (ligne en pointillé) en fonction des longueurs d'onde.

Dans les deux cas, pour les filtres d'émission et d'excitation, l'épaisseur totale des filtres n'a pas excédé 1-10  $\mu\text{m}$ , n'incluant pas l'épaisseur des supports en verre de 100  $\mu\text{m}$  d'épaisseur. Ceci prouve que ce type de filtre a été parfaitement adapté pour une intégration dans la configuration planaire de notre détecteur.

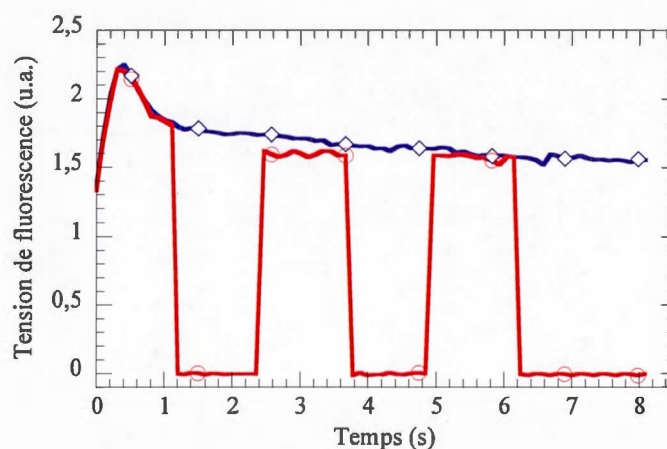
### 5.3.2 Caractéristiques de fluorescence des phytoplanctons : mode de détection

La figure 5.7 montre le signal de fluorescence des micro-algues détecté par l'OPD sous deux conditions de pulse. Le premier est un pulse de 8 s en continu, le second est trois pulses successifs de 1,2 s. Le temps d'échantillonnage a été différent pour ces deux courbes par rapport aux mesures présentées dans la section suivante, ces deux courbes ont des points toutes les 100 ms. Chaque courbe représente la fluorescence des phytoplanctons : nous avons soustrait la tension générée par le OPD sous un pulse de lumière en présence de phytoplanctons par la tension générée par le OPD sous un pulse de lumière sans phytoplancton. Pour courbe avec un pulse de 8 s en continu, la fluorescence des phytoplanctons passe par un maximum suivit d'une décroissance continue. La première partie de cinétique de fluorescence correspond à la fermeture progressive des centres de réaction du PSII. À partir d'un niveau maximal de fluorescence (ici entre 300 ms et 400 ms), le signal de fluorescence commence à diminuer à cause des phénomènes photochimiques non radiatifs.



En effet, en réaction à l'apport trop important de photons incidents, et de manière à protéger les pigments de la dégradation par la lumière, le système biologique des phytoplanctons augmente le taux de transport des électrons vers le PSI. L'information que nous apporte la courbe avec des pulses de 1,2 s est que le mécanisme de drainage des électrons hors du PSII ne revient pas à son état initial immédiatement. La réoxydation complète du centre de réaction du PSII ne se fait pas sur quelques secondes, mais prend plusieurs minutes. Ainsi, pour entièrement voir la cinétique de fluorescence du PSII à partir de son état non oxydé, il a fallu laisser les cultures de phytoplanctons s'adapter dans le noir 10 à 15 min.

En somme, nous observons un temps de réaction des phytoplanctons de plusieurs centaines de millisecondes. Le capteur de fluorescence miniature tel que nous l'avons conçu est d'une part capable de mesurer la fluorescence des phytoplanctons lorsque le centre de réaction du PSII est totalement réduit (comme pour les pulses de la figure 5.7), mais aussi les variations de cinétique de fluorescence au cours du temps à partir d'un état totalement oxydé du centre de réaction du PSII. Puisque la cinétique de fluorescence des phytoplanctons varie principalement lors des premières centaines de millisecondes, et que plusieurs pulses successifs ne permettent pas d'obtenir d'informations supplémentaires, nous nous sommes limités pour les mesures de fluorescence à des pulses de 1,2 s.

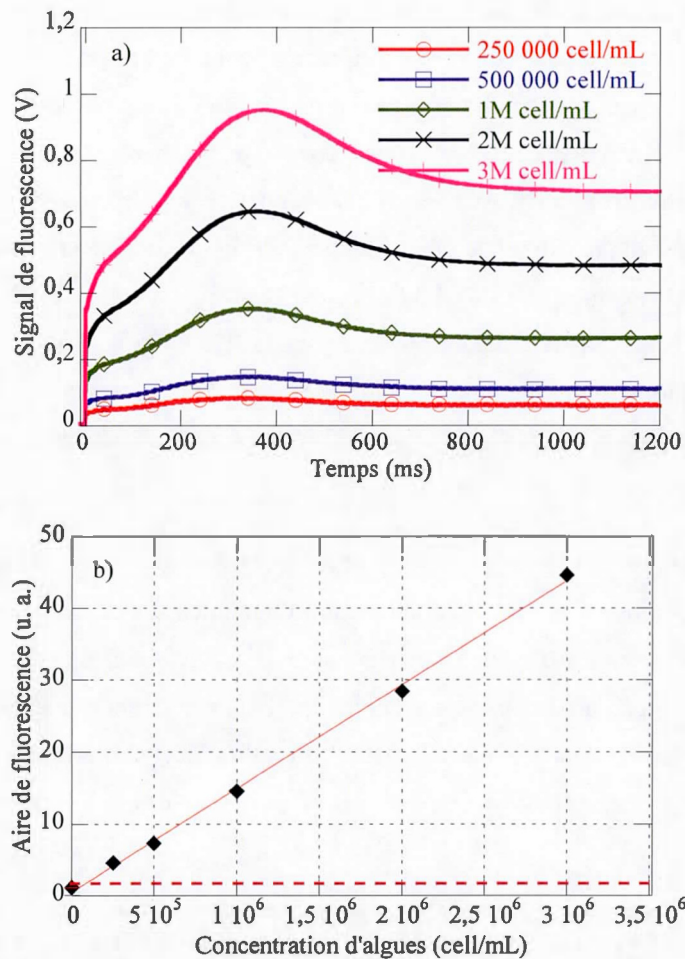


**Figure 5.7** Réponses de fluorescence des algues CC125 en fonction du temps.

### 5.3.3 Mesure de fluorescence des micro-algues à différentes concentrations

La figure 5.8.a montre le signal de fluorescence détecté par le OPD sous un pulse de l'OLED de 1,2 s à différentes concentrations de phytoplanctons en fonction du temps. Comme lors de la section précédente, nous avons soustrait la tension générée par le OPD sous un pulse de lumière en présence de phytoplanctons par la tension générée par le OPD sous un pulse de lumière sans phytoplancton. Les premières valeurs de fluorescence sur la figure 5.8.a pour chaque concentration de phytoplancton correspondent à la valeur mesurée à 25 ms du début du pulse de lumière. Comme nous pouvons le voir, pour chaque concentration de phytoplanctons, la cinétique de fluorescence des phytoplanctons sains augmente graduellement jusqu'à un pic à 350 ms puis décroît continuellement. Nous observons ces mêmes variations pour toutes les concentrations mesurées. En effet, comme expliqué précédemment, ces variations de cinétiques sont caractéristiques de phytoplanctons sains. Nous verrons dans la section 5.3.4 que c'est à partir de ces variations de cinétiques que nous pouvons évaluer la toxicité d'un polluant.





**Figure 5.8** a. Réponse de fluorescence des algues CC125 à différentes concentrations algales. b. Intégration de l'air de fluorescence en fonction de la concentration algal (la ligne en pointillée rouge représente la limite de détection ( $S/B=3$ )).

Nous observons aussi sur la figure 5.8.a que les intensités de fluorescence augmentent avec l'augmentation des concentrations de phytoplanctons sur toute la période d'émission de fluorescence. De plus, l'OLED bleue a permis d'exciter les phytoplanctons avec suffisamment de photons pour induire de la fluorescence, et que celles-ci puissent être détectées à des concentrations relativement petites (inférieures à 250 000 cell/mL). En effet, nous avons été capables de mesurer la fluorescence d'environ 2 200 cellules présentes dans la

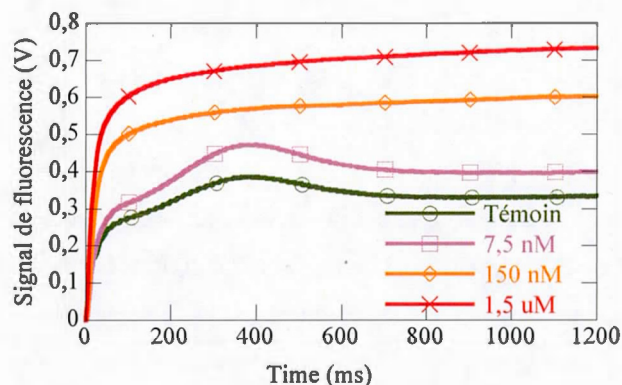
chambre de détection (chambre de 9  $\mu\text{L}$  avec une concentration de 250 000 cell/mL). À partir de ces mesures, nous pouvons extraire l'aire sous chaque courbe et la représenter dans la figure 5.8.b pour visualiser l'évolution linéaire du niveau de fluorescence en fonction de la concentration en phytoplanctons. Nous pouvons affirmer à partir de cette figure qu'il est possible avec notre capteur de quantifier la concentration en phytoplancton d'une solution lorsque celui-ci aurait été calibré au préalable. En prenant en considération le niveau de bruit des mesures (à partir du signal du photodétecteur sans aucun signal de fluorescence), que nous avons représenté par la ligne en pointillée sur la figure 5.8.b, nous pouvons estimer la limite de détection de notre système actuel de détection à 210 00 cell/mL (signal/bruit = 3) pour les micro-algues CC125. Cela correspond à une limite de détection de 1 900 cellules présentes dans la chambre de détection.

Ces valeurs sont indicatives pour évaluer la sensibilité d'un tel capteur miniature de fluorescence. Les valeurs seuils ne s'appliquent qu'aux micro-algues vertes CC125, dont les *Chlamydomonas reinhardtii* sont reconnues pour posséder beaucoup de chlorophylle *a*. cependant, nous avons prouvé par ces résultats qu'il était possible d'une part de mesurer la fluorescence des phytoplanctons dans une puce microfluidique, et d'autre part de mesurer les variations de cinétique de fluorescence des phytoplanctons saines.

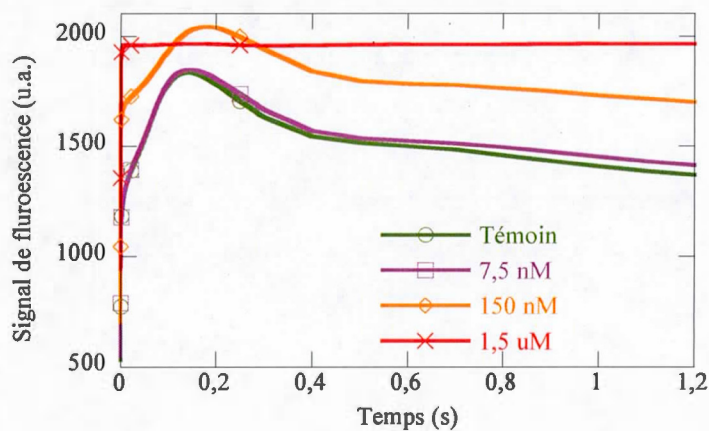
#### 5.3.4 Mesure de toxicité avec le diuron

Les résultats des mesures de fluorescence de l'appareil commercial PEA et de notre dispositif ont été tracés sur les figures 5.9 et 5.10. Ces figures montrent le signal de fluorescence d'une culture de phytoplanctons de  $1 \times 10^6$  cell/mL détecté par le photodétecteur sous un pulse de lumière à différentes concentrations du polluant (de 1  $\mu\text{s}$  à 1200 ms pour le PEA et de 25 à 1200 ms pour notre dispositif). Chaque courbe représente le signal de fluorescence des phytoplanctons, la réponse des phytoplanctons a été soustraite par le signal sans celles-ci. Nous constatons que l'ajout du polluant change l'allure de la cinétique de fluorescence des phytoplanctons. On observe une augmentation sur signal de fluorescence lors des 100 premières millisecondes, proportionnelle à la concentration en polluant. Le Diuron induit une augmentation de la fluorescence parce qu'il bloque le transfert d'électron dans le PSII. Les électrons retournent du centre de réaction du PSII pour être transféré à la chlorophylle *a* qui évacue le surplus d'énergie par fluorescence. Lorsque la concentration en

diuron augmente, le nombre de centres de réaction fermés augmente. Cela a pour conséquence une augmentation de la fluorescence émise par les micro-algues.



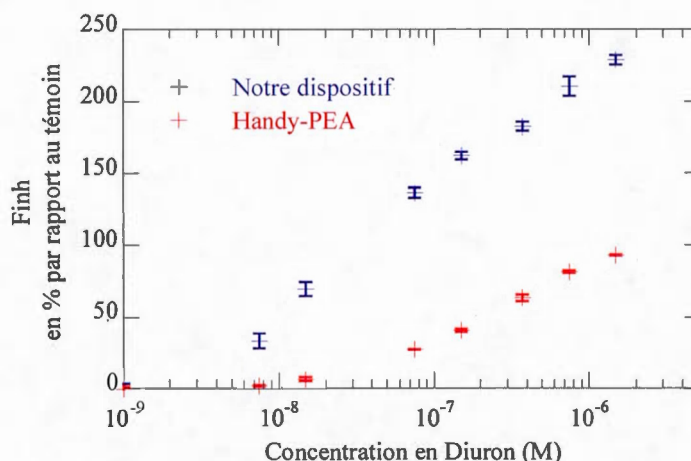
**Figure 5.9** Fluorescence des micro-algues à différentes concentrations en Diuron (dispositif microfluidique).



**Figure 5.10** Fluorescence des micro-algues à différentes concentrations en Diuron (PEA).

À partir des courbes de cinétique de fluorescence, nous pouvons extraire plusieurs paramètres qui sont représentatifs des processus physiologiques. Nous avons extrait un paramètre sensible pour chacun des deux dispositifs. Pour l'équipement commercial, nous

avons calculé le paramètre  $V_j = (F_{2ms} - F_{50\mu s}) / (F_M - F_{50\mu s})$ , où  $F_{50\mu s}$ ,  $F_M$ , et  $F_{2ms}$  sont respectivement les points de fluorescence à 50  $\mu s$ , de fluorescence maximum et de fluorescence à 2 ms comme décrit par Force et coll. (64). Pour notre dispositif, nous avons adapté ce paramètre par rapport à nos contraintes d'un échantillonnage de 1 ms. Nous avons ainsi calculé le paramètre  $F_{25m} = F_{25ms} / F_{max}$  où  $F_{25ms}$  est le point de fluorescence à 25 ms, et  $F_{max}$  le point de fluorescence maximal de la courbe à 1.5  $\mu M$  de Diuron (qui correspond à la concentration maximale de polluant testée). Dans le but de comparer la sensibilité de notre capteur microfluidique par rapport à la sensibilité du système commercial, nous avons repris un facteur d'inhibition  $F_{inh}$  déjà utilisé auparavant (51), et nous l'avons calculé avec mesures de fluorescence.  $F_{inh} = [\text{paramètre C} - \text{paramètre T}] / \text{paramètre C}$  dans lequel C et T représentent respectivement les paramètres des valeurs du témoin et des valeurs traitées. Les deux facteurs d'inhibition (en pourcentage), calculés avec  $V_j$  et avec  $F_{25m}$  ont été tracés sur la figure 5.11. Un plus grand pourcentage indique une grande inhibition de photosynthèse par l'herbicide, alors qu'un pourcentage plus faible indique un effet moindre du polluant sur l'efficacité photosynthétique. D'après la courbe dose-réponse, lorsque la concentration en Diuron augmente, nous remarquons une augmentation de l'inhibition de photosynthèse. La concentration de 1,5  $\mu M$  de Diuron induit l'inhibition maximale mesurée après 30 min d'exposition. La plus petite concentration testée et qui donne une différence significative de paramètre  $F_{inh}$  par rapport au contrôle est 7.5 nM. La figure 5.11 montre que le facteur d'inhibition de fluorescence de notre dispositif est plus sensible que celui du système commercial. En effet, la concentration de Diuron qui cause 50 % d'inhibition de photosynthèse ( $EC_{50}$ ) a été égale à  $1,1 \times 10^{-8}$  M (évalué avec le paramètre  $F_{25m}$ ) pour notre dispositif comparé à  $EC_{50} = 2,2 \times 10^{-7}$  M pour le système commercial (évalué avec  $V_j$ ). Ce résultat indique que notre dispositif a une sensibilité accrue pour la détection du Diuron par fluorescence.



**Figure 5.11** Courbe dose réponse du facteur d'inhibition des deux appareils : commercial et notre capteur intégré.

#### 5.4 Conclusion

Nous avons présenté dans ce chapitre un premier dispositif de fluorescence à base de dispositifs organiques capable de mesurer la fluorescence des phytoplanctons et leur variation de cinétique. Ce dispositif planaire, fabriqué à partir des techniques de microfabrication, peut intégrer jusqu'à 24 chambres de détection autonomes. Dans des chambres de détection de 9  $\mu\text{L}$ , le capteur de fluorescence a été capable de mesurer la fluorescence d'environ 2 200 cellules de micro-algues. De plus, la limite de détection du dispositif a été estimée à 210 00 cell/mL (correspondant à 1 900 cellules de micro-algues dans la chambre de détection). Ce dispositif est un premier prototype de capteur qui pourrait à l'avenir mesurer la fluorescence de quelques centaines de microorganismes. Parmi les quelques améliorations à apporter dans le futur, il serait possible d'améliorer les caractéristiques de chaque composant, de maximiser le couplage optique entre la source d'émission, la chambre de détection et le photodétecteur. Pour ce faire, une diminution de la distance entre les dispositifs serait possible en diminuant l'épaisseur des substrats en verre utilisé. Nous pourrions jouer sur la géométrie des OLEDs et des OPDs entre eux. Enfin, l'utilisation de microlentilles, dont la démonstration a été faite par Park et coll. (123), pourrait être une option supplémentaire d'amélioration.





## CHAPITRE VI

### ÉLECTRODES TRANSPARENTES EN NANOFILS MÉTALLIQUES : FABRICATION ET POTENTIEL D'UTILISATION

#### 6.1 Introduction

L'intégration d'un capteur ampérométrique transparent nécessite des électrodes à la fois conductrices et sensibles pour la détection d'espèces chimiques. Parmi les électrodes conductrices transparentes, on retrouve les oxydes conducteurs transparents (TCO) (124) dont l'oxyde d'indium et d'étain (ITO) est le plus utilisé, jusqu'à l'émergence de nouvelles électrodes à base de nanomatériaux (125, 126). La fabrication d'électrodes transparentes à base de nanomatériaux telles que les électrodes à base de nanotubes de carbone, de graphène ou de nanofils (NWs) métalliques (Cu, Ag, Au, ...) est en plein développement pour notamment la fabrication d'écrans tactiles et pour remplacer l'ITO dans la fabrication de télévisions à cristaux liquides (LCD), plasma et OLED. Parmi ces nouveaux matériaux, les électrodes en nanofils d'argent possèdent (AgNWs) une très grande conductivité électrique associée à une grande transparence dans le visible (127, 128). C'est pourquoi les AgNWs sont très utilisés pour la fabrication d'électrodes transparentes flexibles pour les dispositifs organiques (129, 130). L'argent est aussi reconnu pour être un bon matériau pour la réduction de l'oxygène (131-134). Ainsi, l'utilisation des AgNWs a fait l'objet d'études récentes pour améliorer la sensibilité des détections électrochimiques, notamment en augmentant la surface spécifique des électrodes (135, 136). Cependant, ces études se limitent à l'ajout d'AgNWs sur un autre matériau conducteur. Aucune étude n'a été faite sur le potentiel des électrodes conductrices totalement en NWs pour la détection électrochimique. Nous allons dans ce chapitre montrer que les électrodes en AgNWs possèdent des caractéristiques nouvelles pour une détection plus sensible de l'oxygène. Nous montrerons que la structure des électrodes en

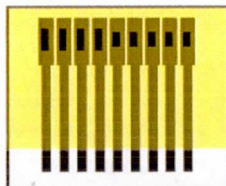
AgNWs, poreuse et rugueuse, associée à la conductivité et la sensibilité de l'argent, permet de fabriquer une nouvelle classe d'électrodes transparentes sensibles pour la détection électrochimique de l'oxygène. De plus, nous verrons comment la fonctionnalisation chimique des AgNWs, à travers l'exemple du dépôt de platine autour des AgNWs, améliore leur sensibilité et leur stabilité pour la fabrication de capteur totalement en nanofils métalliques.

## 6.2 Partie expérimentale

La fabrication d'électrodes à base de nanofils métalliques pour les mesures d'oxygène dans l'eau a été faite en cinq étapes : synthèse d'AgNWs, fabrication des électrodes transparentes sur verre, recuit à 350°C, lithographie et dépôt de platine. Ces étapes ont été décrites dans le chapitre 2.

À partir d'AgNWs fabriqués d'après une méthode améliorée de Xia et coll., nous avons fabriqué des électrodes transparentes en nanofils sur des lamelles de verre (par la méthode de filtration-transfert) avec des densités croissantes en nanofils afin d'étudier l'évolution de la conductivité des électrodes en fonction de leur transparence.

À partir de ces électrodes, plusieurs motifs d'électrodes sont fabriqués par lithographie pour obtenir les motifs représentés sur la figure 6.1. La région active de l'électrode correspond à la surface non protégée par la résine en polyimide (0,5, 1, 2, 3, 4 mm<sup>2</sup>). Les différentes tailles d'électrodes en nanofils ont été testées pour vérifier la reproductibilité de détection sur plusieurs composants. Les différents composants ont ensuite été testés dans différents milieux salins (KCl 0,1 M, PB pH=7) avec une contre électrode en fil de platine.



**Figure 6.1** Schéma des électrodes fabriquées en nanofils d'argent par lithographie.

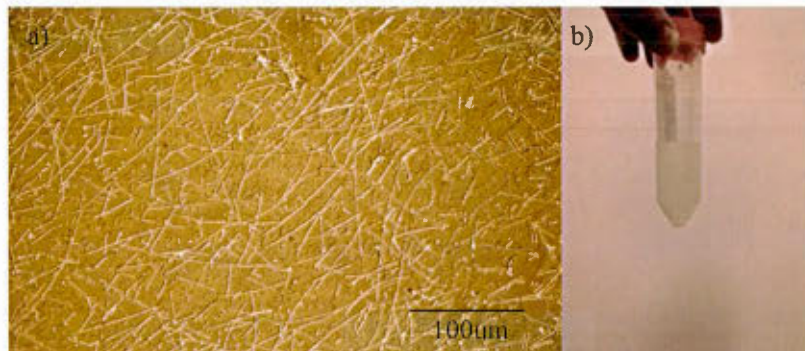
Pour la fonctionnalisation des électrodes, une solution de 1 mM d'acide chloroplatinique ( $\text{H}_2\text{PtCl}_6/6\text{H}_2\text{O}$ ) avec 100 mM de perchlorate de sodium ( $\text{NaClO}_4$ ) comme électrolyte support a été préparée et servi de solution d'électrodéposition. Puisque les électrodes d'argent ne sont pas stables dans le sel de platine, du fait du déplacement galvanométrique, nous avons imposé un potentiel constant directement après l'immersion de l'électrode. Le platine s'est déposé en imposant un potentiel de -0,35 V vs Ag/AgCl (3 M). Au final, des dépôts de  $0,33 \text{ mC/cm}^2$  à  $15,5 \text{ mC/mm}^2$  ont été faits. Les électrodes ont été lavées à l'eau distillée juste après chaque dépôt.

### 6.3 Résultats et discussion

Nous allons voir dans un premier temps les caractéristiques physiques des nanofils et des électrodes en AgNWs, avant de présenter les caractéristiques électrochimiques et de montrer l'utilité du dépôt de platine sur l'argent pour la détection de l'oxygène comme exemple.

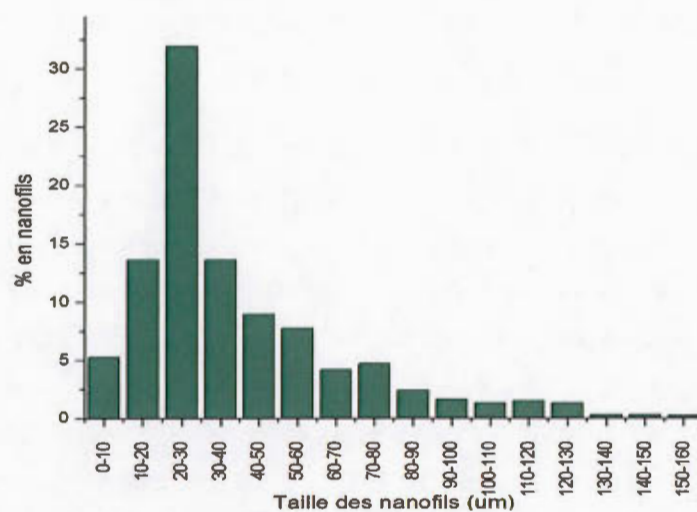
#### 6.3.1 Produit de la synthèse de nanofils

La synthèse nous a permis d'obtenir une solution grise avec des nuages blancs de nanofils. À température de la salle, la solution visqueuse se caractérise par un effet miroir. La figure 6.2.a montre le produit de la synthèse, nous observons un mélange d'AgNWs au milieu de nanoparticules d'argents. Les petites particules d'argent, et autres déchets de petite taille (inférieur à  $2\text{-}3 \mu\text{m}$ ) que l'on observe encore sur la figure 6.2.a sont enlevées lors des étapes de nettoyages (étapes décrites à la section 2.4.4.1). Les AgNWs nettoyés ont ainsi été conservés dans une solution d'IPA, de couleur blanc clair, comme on peut l'observer sur la figure 6.2.b.

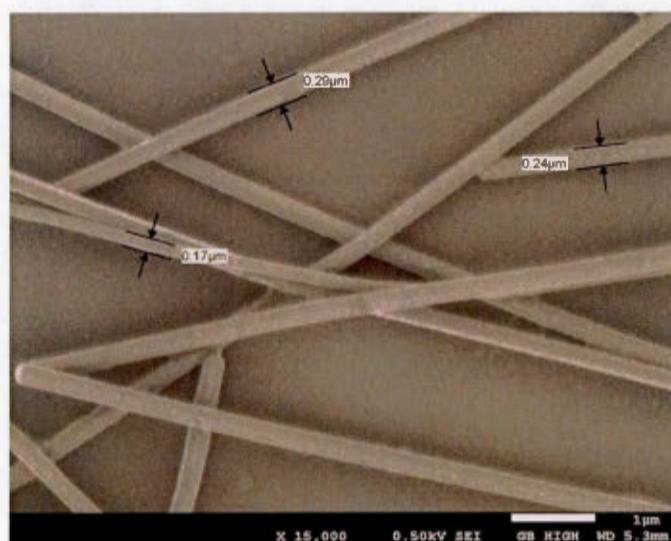


**Figure 6.2** a. Photo du résultat de la synthèse de nanofils d'argent. b. Solution de nanofils d'argent dans l'IPA prête pour la fabrication des électrodes.

La distribution de longueur des fils est représentée sur la figure 6.3. Alors que la méthode de Xia ne permet d'obtenir que des fils de longueur de 10 µm maximum (68), nous avons par notre méthode produit des longueurs de fils allant jusqu'à 100 µm. L'ajout en continu à vitesse constante et contrôlée du sel d'argent permet ainsi de produire de très longs nanofils. Cependant, nous ne contrôlons pas la longueur et ni la proportion de longs fils de manière très précise puisque la distribution de NWs obtenue est très large. Le fait d'obtenir de plus long fils par ajout continu d'AgNO<sub>3</sub> a aussi été trouvé par le groupe de Ko S.H. (137) qui sont allés plus loin en répétant ce type de synthèse afin d'agrandir les fils et d'obtenir des longueurs de plus de 500 µm. Comme nous allons le voir dans la prochaine section, les caractéristiques électriques et optiques des électrodes dépendent essentiellement des longueurs des fils. Nous avons observé par MEB une distribution de diamètre de 100 à 300 nm (figure 6.4).



**Figure 6.3** Distribution de taille des nanofils d'argent obtenus par la synthèse chimique améliorée de Xia et coll.



**Figure 6.4** Imagerie MEB des nanofils d'argent.

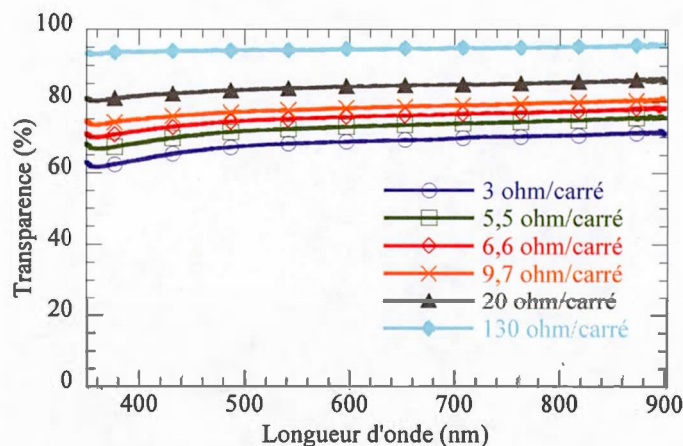
### 6.3.2 Propriétés physiques des électrodes en nanofils d'argent

#### 6.3.2.1 Transparence et résistance par carré

La grande taille des NWs synthétisés, entre 10  $\mu\text{m}$  et 150  $\mu\text{m}$  les empêchent d'être imprimés par des techniques par jet d'encre et par spray. Les nanofils bouchent les buses des cartouches jet d'encre alors que les nanofils se courbent et prennent la forme circulaire de l'embouchure des têtes d'impression à spray. C'est pourquoi nous avons opté pour une technique d'impression en 2 temps : filtration des nanofils sur un filtre en cellulose pour former une électrode transparente de nanofils en contacts les uns aux autres, suivit du transfert de cette électrode par contact sur une plaque de verre fonctionnalisée. Après l'étape filtration-transfert, nous obtenons une électrode dont la transparence se contrôle par la quantité de NWs filtrés.

La figure 6.5 nous montre les transmittances des électrodes fabriqués à différentes conductivités. Nous avons avec nos NWs synthétisés chimiquement réussis à fabriquer des électrodes très conductrices (avec une résistance par carré inférieure à 10  $\text{ohm}/\square$ ) et transparentes (avec une transmittance supérieure à 75 %). Cette transparence est valable sur toutes les longueurs d'onde du spectre visible. Elle sera essentielle pour la fabrication du capteur opto-ampérométrique dans le prochain chapitre.

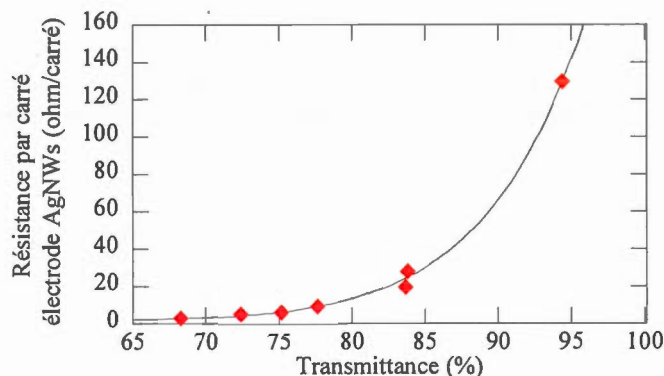




**Figure 6.5** Transparence des électrodes en nanofils d'argent pour différente résistance par carré.

À partir de la figure 6.5, nous pouvons extraire les valeurs de transmittance à 550 nm et les comparer dans une nouvelle figure 6.6 par rapport à la résistance par carré mesurée. Celles-ci nous permettent ainsi de voir que la résistance par carré des électrodes fabriquées augmente avec l'augmentation de la transparence. Pour comprendre ce phénomène, il faut regarder comment les électrodes deviennent conductrices. La conductivité des électrodes en AgNWs est obtenue par percolation des nanofils. Plus la quantité de NWs est grande, plus la conductivité des électrodes augmente, car nous augmentons le nombre d'interconnexions. Cependant, nous diminuons du même coup la transmittance des électrodes car nous augmentons la densité des AgNWs.

Les électrodes en AgNWs peuvent rester conductrices jusqu'à des valeurs de transparence supérieure à 90 % d'après la littérature (125, 138). Cette caractéristique est attribuée au très faible seuil de percolation des NWs grâce à leur très grande longueur. Ainsi, la très grande conductivité intrinsèque de l'argent associée à la grande longueur des NWs permet d'obtenir les électrodes les plus transparentes et conductrices à base de nanomatériaux dans la littérature.



**Figure 6.6** Résistance par carré des électrodes en nanofil d'argent en fonction de leur transmittance.

Les mesures de résistance de feuille des électrodes dans les figures 6.5 et 6.6 ont été prises une semaine après avoir été conservées à l'air. Nous avons observé au cours des étapes de fabrication une variation des résistances carrées des électrodes fabriquées. L'étape de recuit juste après le transfert abaisse les valeurs de résistance par carré de 10 à 20 %. Cependant, les données ont de nouveau augmenté de 10 à 20 % après une journée d'exposition à l'air, pour revenir aux valeurs initiales mesurées juste après leur transfert. Ce phénomène peut être attribué à la formation d'une couche à la surface d'oxyde d'argent, oxyde natif qui se forme au contact avec l'air. L'argent, parmi tous les métaux, a la particularité d'avoir un oxyde (AgO) conducteur (résistivité Ag :  $1,59 \times 10^{-6} \Omega \cdot \text{cm}$ ;  $\text{AgO}_2$  :  $10^8 \Omega \cdot \text{cm}$ ; AgO :  $59,3 \Omega \cdot \text{cm}$ ) (139), de ce fait, leur conductivité permet aux AgNWs de rester conducteur malgré leur oxydation. Malheureusement, comme nous le verrons sur la figure 6.17, les mesures XPS ne nous ont pas permis de quantifier la proportion d'oxyde sur dans les NWs à cause du très faible déplacement des pics de l'oxyde d'argent ( $\text{AgO}_x$ ) par rapport à l'Ag pur. Après le recuit des électrodes, nous avons constaté que les électrodes avaient une meilleure tenue mécanique sur le verre pour la suite des étapes de fabrication. Nous pensons que l'étape de recuit a permis la fusion des NWs entre eux, améliorant ainsi la conductivité des électrodes, et elle a permis aussi aux nanofils de se lier davantage aux fonctions thiol de la plaque de verre. Ainsi, l'étape de recuit à  $350^\circ\text{C}$  est essentielle pour la fabrication d'électrode d'AgNWs.

La figure 6.7 est une photo d'une des électrodes en nanofils fabriquées par notre méthode. Bien que transparentes (transmittance de 75% à 550 nm) et conductrices (résistance de feuille de 6  $\text{ohm}/\square$ ), nous observons des réflexions. Cette réflexion, que l'on aperçoit avec un angle, est due au trop grand diamètre des NWs synthétisés (100 à 250 nm). En effet, parmi les électrodes transparentes qu'il existe dans la littérature (avec les électrodes en graphène ou en nanotubes de carbone), les électrodes en NWs métalliques présentent le gros désavantage de réfléchir de la lumière, bien qu'elles soient plus conductrices et transparentes sur de grandes surfaces. En effet, la transparence des nanofils métalliques (AgNWs dans notre cas) est une transparence en majorité diffuse (125). Cependant, même diffuse en partie, elle ne pose aucun problème pour notre application puisque les électrodes fabriquées vont être directement alignées et collées sur les OLEDs dans le chapitre suivant.



**Figure 6.7** Photo d'une électrode en nanofils d'argent (75% de transparence).

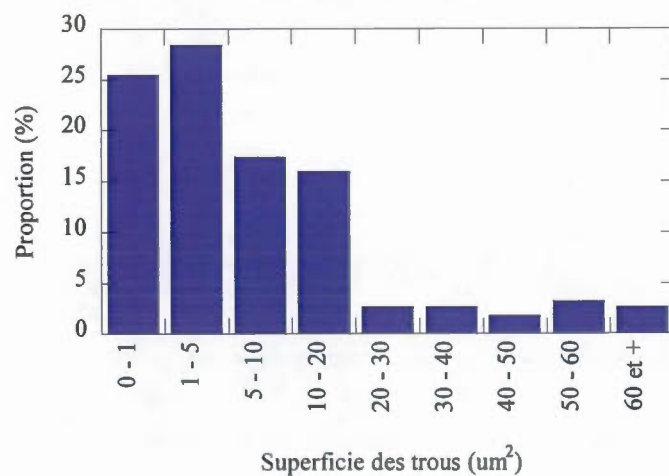
#### 6.3.2.2 Rugosité et porosité des électrodes

L'image MEB présentée sur la figure 6.8 montre la très grande porosité des électrodes fabriquées. Nous avons à partir des images MEB (telle que celle de la figure 6.8), déterminé la superficie des trous. Leur distribution est représentée sur la figure 6.9. Les trous sont en moyenne de 11  $\mu\text{m}^2$ . Ils peuvent aller jusqu'à plus de 60  $\mu\text{m}^2$ , même si la grande majorité est inférieure à 1  $\mu\text{m}^2$ . Le quart des trous sont de plus de 10  $\mu\text{m}^2$  de superficie. Leurs tailles justifient la très grande transparence des électrodes. L'éloignement des NWs entre eux diminuera les effets d'interdiffusion entre chaque nanofil voisins pour la détection électrochimique.

La rugosité des électrodes fabriquées est de l'ordre de 100 nm, peu importe la transparence et la quantité déposée de nanofils. Cette valeur s'explique en grande partie par le diamètre des nanofils qui dépasse la centaine de nanomètres et par les trous observés sur l'image MEB. La grande rugosité aura comme effet une augmentation de la surface spécifique des électrodes, ce qui améliorera la sensibilité du capteur.



**Figure 6.8** Image MEB d'une électrode en nanofils d'argent.



**Figure 6.9** Aire des trous entre les nanofils.

En conclusion, la très grande porosité, rugosité, associée à la grande transparence et conductivité des AgNWs font que les électrodes en AgNWs, et plus généralement en nanofils métalliques, possèdent de nombreuses propriétés physiques avantageuses. Nous allons voir dans les sections suivantes quelles sont les répercussions sur les propriétés électrochimiques pour la détection de l'oxygène.

### 6.3.3 Propriétés électrochimiques des électrodes en nanofils d'argent

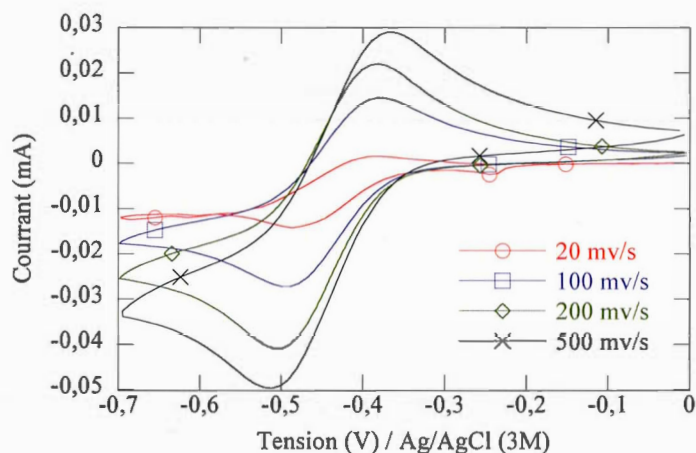
#### 6.3.3.1 Calcul de la surface effective électrochimique

La surface effective électrochimique est un paramètre important dans le développement futur des capteurs électrochimiques, car elle est directement reliée à la sensibilité des capteurs. Nous avons voulu comparer pour une même surface géométrique la surface spécifique d'une électrode d'Ag pur et d'une électrode en AgNWs à 6 ohm/□. Afin de calculer leur surface effective électrochimique, nous avons fait des voltampérogrammes à différentes vitesses de balayage entre 0 et -0.7 V vs. Ag/AgCl (3 M) dans une solution de 1,4-benzoquinone de 5.5 mM et TEAQ de 0.25 M. La figure 6.10 représente les voltampérogrammes pour l'électrode AgNWs à différentes vitesses de balayage (20, 100, 200, 500 mV/s). On peut constater que la réaction aux électrodes en NWs est quasi-réversible et le transfert de masse vers la surface des électrodes est contrôlé par la diffusion, comme pour une électrode pleine. Nous avons pu ainsi utiliser l'équation de Randles-Sevcik où  $n$  est le nombre d'électron ( $n = 1$  pour notre couple redox),  $A$  l'aire effective de l'électrode,  $D$  le coefficient de diffusion ( $D = 2.7 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ ),  $v$  la vitesse de balayage (mV/s) et  $C$  la concentration du couple redox ( $5.5 \times 10^{-6} \text{ mol}/\text{cm}^3$ ) :

$$I_p = 2.69 \times 10^7 \times n^{\frac{3}{2}} \times A \times D^{\frac{1}{2}} \times C \times v^{\frac{1}{2}} \quad (6.1)$$

De cette formule, nous avons la surface effective  $A$  qui est proportionnelle à  $I_p/v^{1/2}$ . Les courants anodiques et cathodiques à différentes vitesses de balayage ont été extraits des différents voltampérogrammes pour les électrodes d'Ag et d'AgNWs. La surface effective des deux types d'électrode a donc été calculée par régression linéaire de l'équation 6.1.





**Figure 6.10** Voltammétrie cyclique d'une électrode Nws Ag ( $2 \text{ mm}^2$ ).

Les résultats des calculs de la surface effective des deux électrodes sont représentés dans le tableau 6.1. Nous constatons que les deux électrodes, en AgNWs et en Ag ont quasiment la même surface effective. L'électrode en AgNWs a 10% de surface en plus. Cependant, à partir des images MEB des électrodes d'AgNWs (figure 6.8), on peut calculer que la surface des NWs recouvre seulement 25% de la surface géométrique. Ainsi, pour seulement  $\frac{1}{4}$  de la surface recouverte, les électrodes en NWs ont la même surface spécifique qu'une électrode pleine en argent. Ce constat se justifie par la très grande porosité et rugosité des électrodes en nanofils. Au courant radial, majoritaire pour une électrode pleine, s'ajoute le courant axial autour de chaque nanofil, augmentant d'un facteur 4 le courant de réaction. En somme, pour une même surface géométrique, les électrodes en nanofils de  $6 \text{ ohm}/\square$  ont la même surface effective de réaction, tout en étant transparente dans le visible. Ces propriétés seront exploitées dans le chapitre suivant lors de la conception d'un capteur opto-ampérométrique pour la détection de l'oxygène produite et consommée par les phytoplanctons.

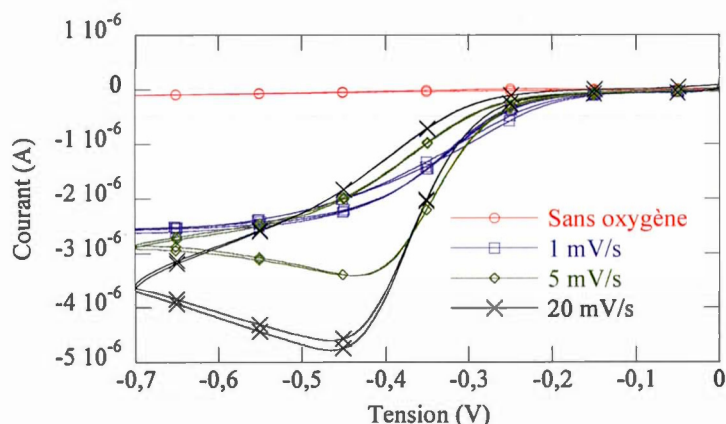


**Tableau 6.1** Calcul de la surface électrochimique effective des électrodes d'Ag.

Électrodes	Linéarité	Pente	Aire effective	Aire géométrique de l'électrode	% surfacique d'argent
Ag pur	0,99	0,157	2,03 mm <sup>2</sup>	2 mm <sup>2</sup>	100%
Ag Nws (6 ohm/□)	0,99	0,169	2,19 mm <sup>2</sup>	2 mm <sup>2</sup>	25%

### 6.3.3.2 Propriété réductrice d'oxygène

La figure 6.11 montre la réponse d'une électrode en AgNWs avec et sans oxygène par voltampérométrie cyclique de 0 V à -0.7 V dans du KCl 0,1 M. Sans oxygène, le courant de réduction est nul à la surface de l'électrode. Les AgNWs ne réduisent ainsi aucune espèce chimique dans le KCl. En présence d'oxygène, nous avons un pic de réduction qui commence à -0,12 V. Les AgNWs réduisent donc l'oxygène dissout dans l'eau. Parmi les matériaux disponibles dans la littérature, l'argent se présente comme un bon réducteur de l'oxygène. Il est meilleur que l'or et l'ITO qui avait été utilisé par Shitanda et coll. (50) pour la mesure avec des phytoplanctons. Cependant, le platine, le carbone sont plus efficaces et sont privilégiés pour la fabrication de capteur d'oxygène commercial. Sur cette même figure 6.11, nous avons représenté les courbes de réduction de l'oxygène d'une électrode en nanofil d'argent à différentes vitesses de balayage. Sur cet exemple, nous observons une courbe de réponse sigmoïdale et quasi stationnaire pour des vitesses de balayage très faibles, inférieures à 1 mV/s. Lorsque l'on augmente la vitesse de balayage, nous observons une diffusion linéaire semi-infinie. La réaction de réduction d'oxygène est ainsi limitée par la diffusion à des vitesses de balayage supérieures à 5 mV/s.



**Figure 6.11** Voltampérométrie cyclique dans du KCl 0,1 M d'une électrode en nanofils d'argent entre 0 et -0,7 V à différente vitesse de balayage (vs Ag/AgCl (3 M)).

Nous avons comparé le signal de réduction d' $O_2$  à -0,6 V par chronoampérométrie l'électrode en AgNWs  $6 \text{ ohm}/\square$  avec l'électrode en argent plein de même surface géométrique dans une même solution de PB à  $8.3 \text{ mg}(O_2)/\text{mL}$ . Nous constatons, d'après les résultats du tableau 6.2 que les deux électrodes obtiennent le même courant de réduction par rapport à leur surface effective (qui est 10% plus grande pour l'électrode Nws Ag). Ce résultat est en accord avec le fait que pour les deux dispositifs, nous avons de l'argent avec quasiment la même surface électrochimiquement active. Il montre ainsi que les électrodes en NWs, et plus généralement les AgNWs ont la même efficacité de réduction de l'oxygène à -0,6 V vs Ag/AgCl (3 M). Le fait d'avoir un matériau d'une épaisseur de 100 nm environ n'affecte pas la réduction de l'oxygène à la surface des AgNWs par rapport à l'argent plein. Les électrodes en AgNWs, pour la réduction de l'oxygène reste des électrodes en argent, avec le comportement de l'argent. Le fait que nous ayons des NWs nous permet par contre d'avoir des électrodes transparentes tout en conservant la même surface électrochimiquement active avec une électrode de  $6 \text{ ohm}/\square$ . Cette surface pourrait être augmentée en augmentant la quantité de nanofils, nous aurons aussi une conductivité plus grande. Cependant, cette augmentation se ferait au détriment de la transparence des électrodes.

**Tableau 6.2** Comparaison du courant électrochimique entre les électrodes d'Ag pleine et en nanofils.

Électrodes	I (sans oxygène)	I (8,3 mg/mL O <sub>2</sub> )
Ag pur	43 nA	750 nA
Ag Nws (6 ohm/□)	44 nA	800 nA

### 6.3.3.3 Reproductibilité des dispositifs

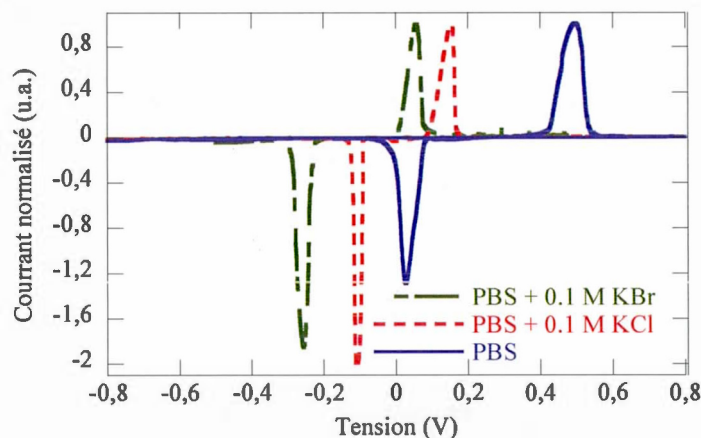
Pour les capteurs, la reproductibilité de fabrication des dispositifs d'un lot à l'autre est primordiale pour la détection. D'un dispositif à un autre, il ne faudrait pas avoir une différence significative de surface effective. Nous avons ainsi testé différents dispositifs à base d'AgNWs, avec des tailles allant de 0,5 à 4 mm<sup>2</sup>. Nous n'avons constaté aucune différence majeure (supérieure à 5%) entre les dispositifs d'AgNWs sur différent lot de conductivité semblable.

Contrairement aux électrodes pleines, où la surface est contrôlée par lithographie, la surface effective des électrodes en NWs dépend de la densité ainsi que de la taille des nanofils déposés par filtration. Nous savons que statistiquement nous obtenons pour une même distribution de nanofils les mêmes caractéristiques transparence/conductivité. Nous avons pu constater d'après nos résultats que pour une même conductivité, d'un lot à un autre, nous avons la même surface effective. Cependant, cette constatation n'est valable que pour des surfaces géométriques supérieures à 0,5 mm<sup>2</sup>. Nous pouvons nous attendre à des variations plus importantes pour des surfaces inférieures à 100 µm par exemple, puisqu'elles seront de l'ordre de la taille des nanofils.

### 6.3.3.4 Voltampérométrie cycle de -1 V à 1V

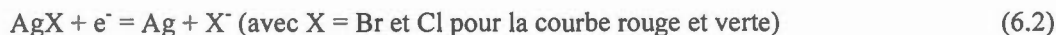
La figure 6.12 montre le cycle de voltampérométrie cyclique de 3 électrodes en AgNWs entre -1 et 1 V (vs Ag/AgCl (3 M)) dans du PB, PB + 0,1 M KBr, PB + 0,1 M KCl. Ces trois électrodes ont été testées séparément, avec le début du balayage qui commençait à 0 V, pour aller jusqu'à -1 V, puis 1 V pour revenir à -1 V et terminer à 0 V.

Pour les trois courbes, aucun pic majoritaire n'apparaît lorsque nous balayons de 0 V à -1 V (nous avons un pic de réduction de l'oxygène qui est un peu visible à partir de -0,4 V, car le dégazage de l'oxygène n'a pas été terminé). Lorsque nous balayons dans les tensions anodiques, nous observons un pic d'oxydation qui commence à 250 mV pour la courbe en bleu, -2 mV pour la courbe verte, et à 8 mV pour la courbe en rouge. Ces trois pics d'oxydation correspondent au pic d'oxydation de l'argent dans du PB, et aux pics de formation d'AgBr et d'AgCl en présence d'ion Br<sup>-</sup> et Cl<sup>-</sup>. Lorsque l'on retourne dans les courants cathodiques, nous observons bien la réduction de l'argent à 80 mV (courbe bleue), de l'AgBr à -220 mV (courbe verte) et de l'AgCl à -8 mV (courbe rouge).



**Figure 6.12** Voltampérométrie cyclique de 3 électrodes en nanofils d'argent entre -1 et 1 V (vs Ag/AgCl (3 M)) dans du PB, PB + 0,1 M KBr, PB + 0,1 M KCl.

Il est connu que l'argent, réagit en présence d'halides (ion Cl<sup>-</sup>, ion Br<sup>-</sup>, ion I<sup>-</sup>) (140, 141) pour former/précipiter à la surface du métal une couche halide-argent. Par conséquent, la formation de ce précipité résulte en un courant anodique lorsque l'on balaye l'électrode d'argent dans les courants anodiques, et on observe un courant de réduction lorsque l'on balaye dans les courants cathodiques. L'équation électrochimique que l'on observe en présence d'halide (courbe verte et rouge) est la suivante (142) :



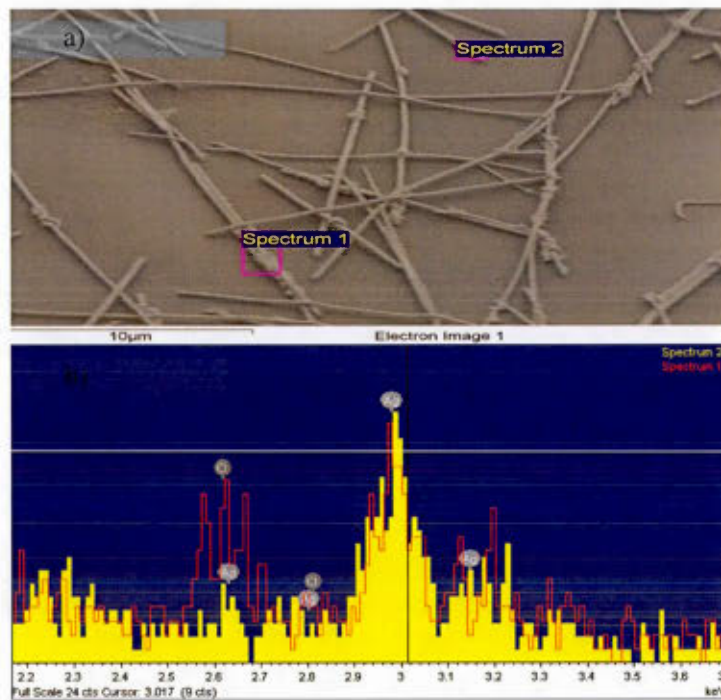
Lorsque l'on est uniquement dans du PB, on a seulement l'oxydation et la réduction de l'argent dans le milieu (courbe bleue) :



L'argent et les nanofils d'argent ont déjà fait l'objet de travaux dans la fabrication de capteur d'halides en exploitant ces réactions à la surface de l'argent. Cependant, ces réactions sont un problème pour les électrodes transparentes en AgNWs. Nous avons seulement pu représenter sur la figure 6.12 le premier cycle pour les trois dispositifs testés, puisque le contact électrique a été perdu. Ce phénomène a été observé sur toutes les électrodes en AgNWs testées. Ces électrodes ne sont donc pas stables lorsqu'on applique une tension positive. De plus, la taille des électrodes n'a aucun effet sur leur durée de vie, même si on aurait pu penser que l'augmentation de la taille des électrodes en AgNWs permettrait d'augmenter leur durée de vie. En effet, l'augmentation de la taille augmente la quantité d'Ag. Puisque l'argent se consomme en AgCl, la quantité d'Ag serait directement liée à la durée de vie des électrodes en Ag. Les électrodes en AgNWs sont très minces, et la quantité totale est trop faible. Par conséquent, l'augmentation de la surface des électrodes en AgNWs aurait pu être une solution pour augmenter la durée de vie des électrodes tout en gardant leur transparence. Cependant, nous avons remarqué avec nos tests que peu importe la taille des électrodes, leur durée de vie ne dépassait pas les dizaines de minutes lorsqu'on lui appliquait un courant constant positif. Nous avons vérifié par MEB et par les mesures EDS associées que la formation d'AgCl n'est pas homogène (figure 6.13.a). Nous remarquons qu'il y a des agglomérations localisées autour des AgNWs. Ces amas ne sont pas présents sur une électrode de nanofils d'argent pur tel que nous l'avons constaté sur la figure 6.8. Nous pouvons vérifier que ces excroissances sont en AgCl d'après les mesures EDS de la figure 6.13.b. Sur une zone sans imperfection des AgNWs, nous avons seulement de l'argent présent (présence du pic d'argent à 3 eV sur le spectrum 2), alors que sur la partie agglomérée nous avons à la fois du chlore et de l'argent. Sur le spectre en rouge (spectrum 1), nous avons bien le pic de chlore à 2.6 eV et le pic d'argent à 3 eV. La croissance se fait donc à des endroits localisés sur les nanofils, sûrement à des endroits où la densité de courant était la plus forte. Puisque l'AgCl est un diélectrique (résistivité  $> 10^8 \Omega.m$ ), la consommation de l'argent en AgCl se localise sur des tranches des nanofils au lieu d'être tout autour des



nanofils, et ainsi coupe la conductivité électrique des électrodes. La formation d'AgCl non homogène autour des AgNWs met en évidence la non-homogénéité de surface des nanofils. Les impuretés chimiques à la surface, voire même une distribution non uniforme de l'Ag pur par rapport aux  $\text{AgO}_x$  sur la longueur des fils peut engendrer l'apparition de défauts et se traduirait par l'apparition de densité de courant plus forte localisée à certains endroits sur les fils.



**Figure 6.13** a. Image MEB et b. les mesures EDS associées des nanofils d'argent (les aires en violet représentent les aires de détection EDS).

#### 6.3.3.5 Conclusion du comportement électrochimique des électrodes en nanofils d'argent

Les électrodes en AgNWs offrent incontestablement l'avantage d'être des électrodes transparentes, tout en gardant la même surface effective (pour des électrodes de  $6 \text{ ohm}/\square$ ) par rapport aux électrodes pleines en argent. Leur rugosité et leur porosité sont les principaux facteurs de ces propriétés nouvelles. Cependant, ces électrodes sont en argent, et possèdent les mêmes caractéristiques électrochimiques que l'argent pur. L'argent est un bon matériau



pour la réduction de l'oxygène et le peroxyde d'hydrogène, mais réagit facilement avec les halides. Bien que cette propriété avec la présence d'halide puisse être exploitée pour en fabriquer des capteurs électrochimiques, elle est la principale cause de la détérioration de la conductivité des électrodes en nanofils. Le fait que les électrodes soient composées de nanofils très fins, d'environ 100 nm d'épaisseur, fait en sorte que la formation de précipité à la surface de ces électrodes coupe leur conductivité. De plus, nous avons vu que la formation de ce précipité est localisée lorsque l'on applique des courants anodiques sur les électrodes, diminuant encore plus rapidement la durée de vie de ces électrodes. Cependant, nous pouvons garder les propriétés physiques des électrodes en nanofils (transparence, rugosité, porosité) tout en améliorant les propriétés chimiques en fonctionnalisant les nanofils. Notre stratégie a donc été d'entourer les nanofils d'un matériau à la fois plus stable électrochimiquement, et plus efficace pour la détection d'espèce chimique. Nous garderons ainsi la conductivité des AgNWs, tout en exploitant les propriétés chimiques du « shell » autour de ces nanofils. Dans l'optique de fabriquer un capteur d'oxygène pour le chapitre suivant, nous avons testé la fonctionnalisation de nos électrodes en nanofils d'argent par du platine.

#### 6.3.4 Dépôt de platine sur les nanofils d'argent

Pour la fabrication d'un capteur d'oxygène, la stabilité des électrodes, l'efficacité et la consommation sont les trois paramètres à prendre en considération. Afin d'améliorer ces trois paramètres en même temps, nous avons étudié la possibilité de déposer du platine autour des nanofils d'argent. Le dépôt de platine peut se faire sous vide par évaporation ou par électrodéposition. De manière à conserver les électrodes transparentes, nous avons choisi de déposer par galvanométrie (en appliquant un potentiel constant) le platine à partir d'une solution de sel de platine. Le platine recouvrira les nanofils, les épaississant, sans avoir de platine entre les nanofils. La transparence devrait ainsi diminuer sans pour autant être nulle comme ce serait le cas avec une évaporation.

La figure 6.14 montre le résultat du dépôt de platine par galvanométrie dans le sel de platine. À gauche, nous avons une électrode de nanofil Ag-Pt après le dépôt de platine. À droite, une électrode de nanofils d'Ag originale sans platine. Nous constatons que les électrodes sont toujours transparentes, car nous pouvons encore voir le logo de l'UQAM. La transparence a bien diminué avec le dépôt, montrant qu'il y a bien eu dépôt de platine.

L'aspect général de l'électrode d'Ag-Pt laisse supposer que le dépôt de platine est homogène sur toute la surface de l'électrode.

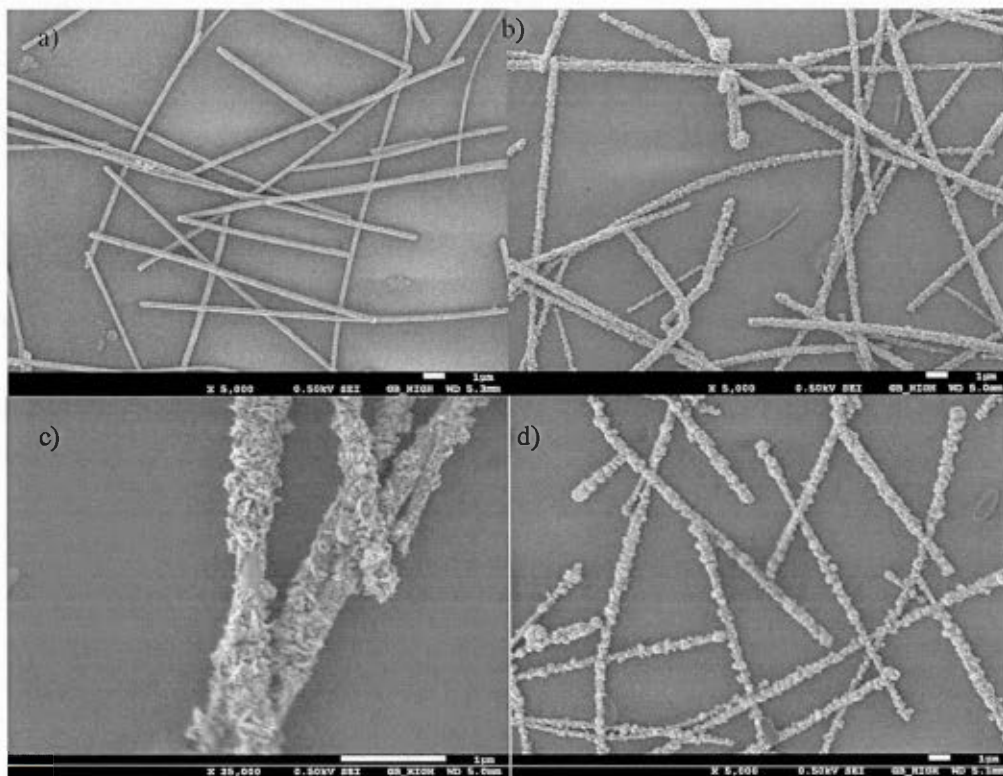


**Figure 6.14** Photo d'une électrode nanofils d'argent (gauche) et d'une électrode nanofils d'argent recouverts de platine (droite).

#### 6.3.4.1 Caractérisation par MEB

La figure 6.15 montre quatre images MEB d'électrodes en nanofils d'argent, sans dépôt (6.15.a), avec un dépôt de 0,5 mC/mm<sup>2</sup> (6.15.b et 6.15.c), avec un dépôt de 1 mC/mm<sup>2</sup> (6.15.d). Nous constatons d'une part que les nanofils conservent leur forme de nanofils. Le platine se dépose bien autour des nanofils d'argent, aucune trace ne s'y trouve dans les trous. Les nanofils augmentent leur rugosité en fonction de la quantité de platine déposé. Nous remarquons à très grand dépôt de platine (avec un dépôt de 1 mC/mm<sup>2</sup>) que des pics et des amas de platine sont apparus. Les nanofils semblent grugés par le platine, car ils ont été quelque peu déformés. Cela s'explique par la double réaction qu'il se passe lorsque nous avons les nanofils d'argent dans la solution de sel de platine. Nous avons d'une part un déplacement galvanométrique entre l'argent solide et le platine sous forme ionique, le platine se substituant à l'argent. Le platine ronge ainsi les nanofils d'argent. D'autre part, nous avons un potentiel négatif qui force le dépôt de platine sur les nanofils, les nanofils augmentant d'épaisseur et de rugosité. La première réaction a pour conséquence une diminution de la résistance de feuille des électrodes, le platine étant moins conducteur que l'argent. La deuxième réaction a pour conséquence une diminution de la transparence des électrodes. Nous avons observé ses deux caractéristiques en même temps après le dépôt de platine.

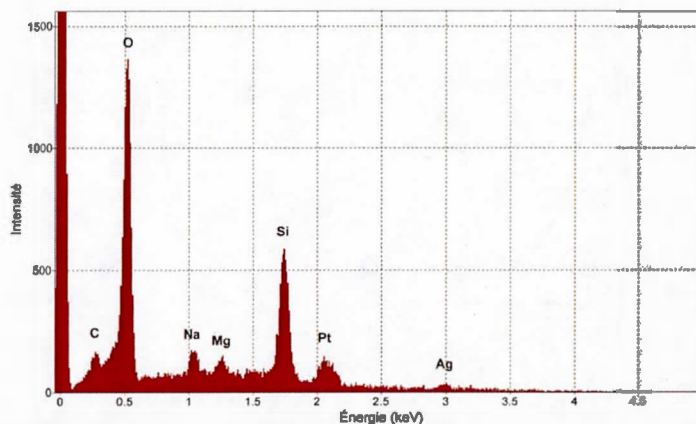
Nous constatons que le dépôt de platine autour des nanofils d'argent n'est pas parfait sur tous les nanofils. Sur la figure 6.15.b, seuls les nanofils en contact avec le réseau d'électrode ont un platine. Le nanofil seul au milieu n'étant pas en contact avec le reste de l'électrode n'a pas de platine autour de lui comme le reste des nanofils. De plus, sur la figure 6.15.c nous visualisons à d'autres endroits qu'il y a des zones de non-dépôt de platine. De fait, le platine n'a pas recouvert toute la surface des nanofils, il reste des zones d'argent à la surface des électrodes. Ces imperfections de dépôts électrochimiques sont certainement dues à l'état de surface non uniforme des électrodes en nanofils juste avant le dépôt. Malgré le nettoyage des électrodes aux solvants organiques et à l'eau, il est resté des zones, non majoritaires, où la surface des électrodes empêche le dépôt de platine. Cependant, la fragilité mécanique des électrodes, et leur faible épaisseur les empêchent d'être nettoyées plus efficacement (nettoyage chimique, ou physique au plasma).



**Figure 6.15** Images MEB de nanofils d'argent avec différent dépôt de platine (a. pas de platine, b. et c.  $1 \text{ mC/mm}^2$ , d.  $15.5 \text{ mC/mm}^2$ ).

#### 6.3.4.2 Caractérisation par EDS

La mesure EDS de la figure 6.16 nous indique que c'est bien un dépôt de platine à la surface des nanofils d'Ag. Le pic à  $2,05 \text{ eV}$  est caractéristique du platine, alors que nous n'observons aucun pic à  $3 \text{ eV}$  qui prouver la présence d'argent. La mesure EDS (fig. 16) a été faite sur toute une surface de  $40 \times 20 \mu\text{m}$ . La présence de pics à  $1,1 \text{ eV}$  pour le silicium et à  $0,5 \text{ eV}$  pour l'oxygène appartient au substrat en verre utilisé.

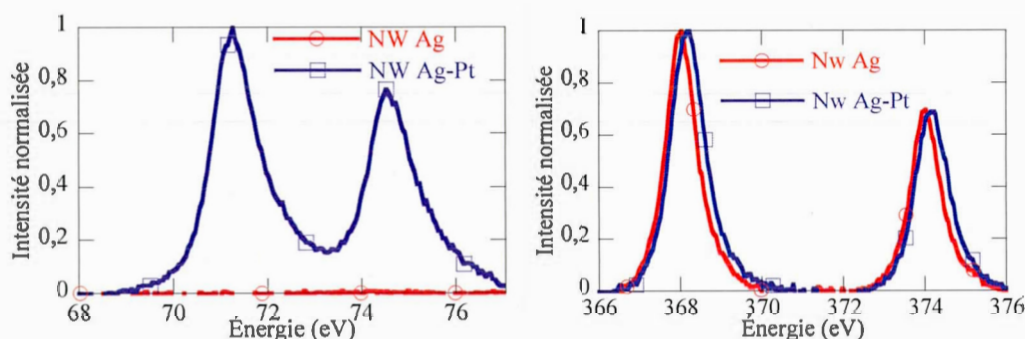


**Figure 6.16** Spectre EDS d'une électrode en nanofils d'argent avec du platine ( $1 \text{ mC/mm}^2$ ).

#### 6.3.4.3 Caractérisation par XPS

Les mesures XPS, représentées sur la figure 6.17, nous ont permis de déterminer la nature du dépôt de platine à partir des tables de référence (143). De ces deux figures, nous n'avons aucun pic pour le platine et deux pics d'Ag pour l'échantillon de nanofils d'argent pur. Les deux pics d'argent, pour les nanofils d'argent pur, sont centrés à 368,0 eV (3d 5/2) et 374,0 eV (3d 3/2). Étant donné que nous ne pouvons pas distinguer le pic de l'oxyde d'Ag (à 367,8 eV et 373,9 eV), trop proche de celui de l'argent pur (368,2 eV et 374,3 eV), nous ne pouvons pas conclure que nos nanofils sont un mélange d'oxyde d'argent et d'Ag. Le pic d'AgNW étant la combinaison des deux pics Ag et oxyde d'argent. L'échantillon de nanofils d'Ag-Pt a par contre les pics 71,2 eV (4f 7/2) et 74,5 eV (4f 5/2) qui confirment la présence de platine sur les nanofils. Nous remarquons aussi la présence de pic d'argent même après le dépôt. Cependant, les deux pics 368,2 eV (Ag/Pt 3d 5/2) et 374,1 eV (Ag/Pt 3d 3/2) sont décalés en énergie par rapport aux pics de l'Ag pur. C'est représentatif de l'argent en alliage avec le platine à la surface des nanofils.





**Figure 6.17** Spectre XPS d'une électrode en nanofils d'argent avec du platine 1 mC/mm<sup>2</sup> (rouge : nanofils Ag, bleu : nanofils Ag-Pt).

Les résultats des mesures XPS sont ainsi reliés au fait qu'un dépôt de 1 mC/mm<sup>2</sup> de platine sur les NWs n'a pas recouvert totalement les AgNWs. Malgré que le dépôt de platine semble homogène dans son ensemble (figure 6.14), il ne l'est pas localement. Les futures mesures et tests présentés dans ce qui suit ont pourtant été réalisés avec les électrodes de nanofils d'Ag-Pt avec un dépôt de 1 mC/mm<sup>2</sup>.

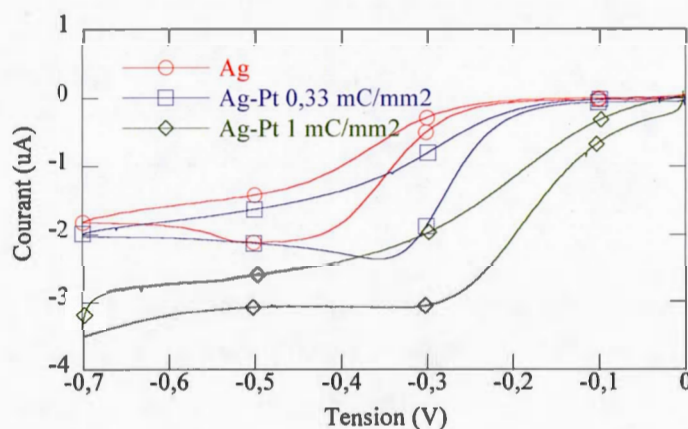
#### 6.3.4.4 Caractérisation électrochimique

Le dépôt de 1 mC/mm<sup>2</sup> de platine se trouve être suffisant pour avoir la signature électrochimique du platine. La figure 6.18, montre la signature électrochimique de réduction d'oxygène dans du KCl 0,1 M pour trois électrodes avec des dépôts de platine de conditions différentes (pas de platine, dépôt de 0,33 mC/mm<sup>2</sup> et dépôt de 1 mC/mm<sup>2</sup>). Nous remarquons que plus le dépôt de platine est important plus la signature de réduction d'oxygène ressemble à celle de réduction par le platine. En effet, nous avons un déplacement du pic de réduction vers la droite, caractéristique du platine. Les nanofils recouverts de platine réduisent l'oxygène à partir de -0,1 V alors que les nanofils d'argent demandent une tension de -0,3 V. De ce fait, le fonctionnement d'un capteur nanofils à base d'Ag-Pt nécessitera une tension moins élevée que l'argent et sa consommation en énergie sera donc plus faible et plus adaptée pour des dispositifs portables. De plus, le dépôt de platine sur les nanofils d'argent augmente le signal de réduction d'oxygène. En effet, nous avons vu que le dépôt de platine rugosifie la



surface des nanofils. En augmentant la surface spécifique des électrodes, nous augmentons du même coût le courant de réduction.

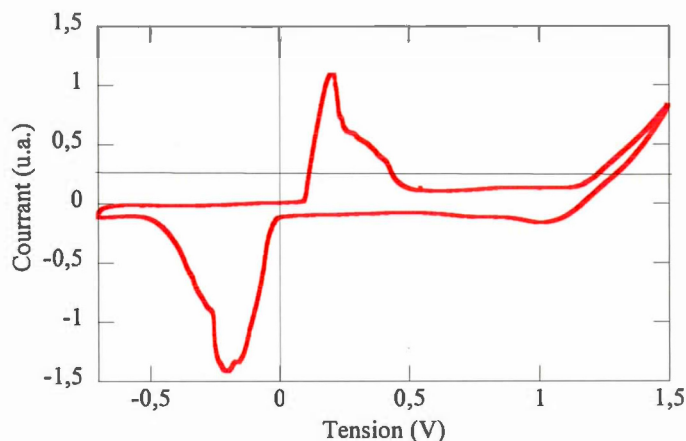
Ainsi, le dépôt de platine sur les nanofils d'argent permet aux électrodes d'être plus efficace puisque nous avons une augmentation du courant de réduction tout en diminuant la tension de fonctionnement. Les électrodes en nanofils Ag-Pt ont donc de meilleures caractéristiques électrochimiques pour la réduction d'oxygène.



**Figure 6.18** Voltampérométrie cyclique dans du KCl 0,1 M entre 0 et -0,7 V (vs Ag/AgCl (3 M)) d'électrode nanofils d'Ag-Pt à différents dépôts de Pt.

La figure 6.19 montre le résultat de voltampérométrie cyclique entre -0,7 et 1 V dans du KCl 0,1 M (vs Ag/AgCl (3 M)). Nous avons vu dans la section 6.3.3.4 que les électrodes en nanofils d'Ag n'étaient pas stables dans les courants anodiques, à cause de la formation d'AgCl qui détruit la conductivité des électrodes. Les pics qui commencent à 26 mV et à -6 mV correspondent à la formation et déformation de l'AgCl. Nous observons sur cette figure que les électrodes en nanofils Ag-Pt sont stables même pour les tensions positives. La présence de ces pics justifie la présence d'argent à la surface des électrodes et corrobore les mesures XPS. À partir de 1,1 V nous observons le début de l'oxydation de l'eau pour former de l'oxygène. Ainsi, la présence de platine autour des nanofils, et la formation de l'alliage Ag-Pt permettent aux électrodes en nanofils de conserver leur conductivité lors de la formation d'AgCl dans les courants anodiques. De ce fait, les nanofils Ag-Pt peuvent être un

choix judicieux comme contre électrode lors de la fabrication du capteur d'oxygène tout en nanofils.



**Figure 6.19** Voltampérométrie cyclique dans du KCl 0,1 M d'une électrode en nanofils d'Ag-Pt entre 1 et -0.7 V (vs Ag/AgCl (3 M)).

#### 6.4 Conclusion

La transparence, la très grande conductivité, leur rugosité et porosité sont autant d'avantages que possèdent les électrodes en nanofils d'Ag et d'Ag-Pt. La rugosité et porosité confèrent aux électrodes une très grande sensibilité de détection. Cette structure particulière permet aussi d'avoir un grand ratio signal/bruit. Nous avons aussi prouvé que l'on pouvait, tout en gardant ces caractéristiques structurales, améliorer les propriétés électrochimiques des électrodes par le dépôt d'un second matériau autour des nanofils d'argent. Nous avons de plus montré que la fonctionnalisation par du platine permettait d'améliorer l'efficacité des électrodes tout en leur permettant d'être stables sur une large gamme de potentiel. Nous pouvons imaginer de fabriquer d'autres électrodes transparentes et sensibles par le même procédé de fabrication. Les nanofils d'argent seront la structure conductrice de l'électrode et nous aurons une gaine d'un second matériau autour des nanofils pour leur donner une sensibilité et une spécificité de détection.

## CHAPITRE VII

### MESURE DE TOXICITÉ AVEC UN CAPTEUR D'OXYGÈNE TRANSPARENT EN NANOFILS

#### 7.1 Introduction

Nous allons présenter dans ce chapitre comment fabriquer un capteur opto-ampérométrique pour mesurer la production et la consommation d'oxygène des microorganismes, dont l'intégration est totalement compatible avec celle du capteur de fluorescence présenté dans le chapitre 5. En effet, ce capteur a été fabriqué afin qu'il puisse, à terme, être totalement intégré dans la même chambre de détection que le capteur de fluorescence. Il a été composé de la même OLED bleue, et d'un capteur ampérométrique à trois électrodes transparentes en nanofils métalliques. L'électrode de travail et la contre électrode ont été réalisées en AgNWs recouverts de platine, et une électrode en nanofils argent a servi de référence. Ce capteur innovant est le premier capteur optoélectronique à base d'électrodes transparentes en nanofils. Nous développerons les étapes de fabrications ainsi que les caractéristiques des électrodes avant de prouver le fonctionnement d'un tel capteur avec les algues vertes *Chlamydomonas reinhardtii* (CC125). Nous montrerons que ce capteur peut mesurer la présence d'un herbicide, le Diuron. Afin de situer les résultats obtenus, nous les allons les comparer avec ceux obtenus avec l'appareil commercial pour la mesure d'oxygène (oxylab, Hansatech, King's Lynn, UK) couramment utilisé dans les laboratoires spécialisés pour l'étude des espèces de phytoplanctons.

## 7.2 Fabrication du capteur opto-ampérométrique

### 7.2.1 Principe du capteur d'oxygène en nanofils métalliques

Le fonctionnement du capteur ampérométrique fabriqué repose sur 3 électrodes, le schéma de principe est représenté sur la figure 7.1. L'électrode de travail (WE) est le siège de la réduction de l'oxygène lorsqu'un potentiel négatif est imposé. Ce potentiel est de -0,1 V vs Ag/AgCl (3 M) pour le platine et de -0,3 V vs Ag/AgCl (3 M) pour l'argent. L'électrode de référence est l'électrode dont le potentiel ne varie pas au court du temps, il joue le rôle de potentiel référence (dont le potentiel peut être mesuré par rapport à l'électrode standard à hydrogène). L'électrode en nanofils d'argent est dite pseudo-référence, car son potentiel varie très peu au court du temps, néanmoins il dépend du milieu dans lequel l'électrode est plongée. Ainsi, avant chaque utilisation, cette électrode nécessite d'être testée afin de déterminer son potentiel dans le milieu d'utilisation. Lorsque l'on impose un potentiel sur la WE par rapport à l'électrode de référence, un potentiel inverse est imposé par le potentiostat sur la contre électrode (CE). Ce potentiel est imposé de manière que le nombre d'électrons généré à la WE soit le même à la CE. L'intensité de la contre réaction qui se produit à la CE est donc de la même grandeur (même nombre d'électrons) que la réaction à la WE. Dans le cas de notre dispositif, nous avons les réactions suivantes qui se produisent aux électrodes :

À la surface de l'électrode de travail, nous avons la réduction de l'oxygène en deux étapes (le milieu de culture HSM est à pH = 6.8) (144) :



À la surface de la contre électrode, nous avons la réduction de l'eau sur le platine et la formation d'AgCl sur l'argent :



Lorsque la CE est en argent, on dit que le système est un capteur à électrodes de Clark d'après le nom de son inventeur. L'argent de la CE se consomme en AgCl. Avec une CE en platine, lorsqu'il n'y a pas d'espèce qui puisse se réduire avant le potentiel d'oxydation de l'eau, un dégagement d'oxygène se produit à sa surface (potentiel > 1 V vs Ag/AgCl (3 M)). Dans ce cas, il faut que la CE soit suffisamment éloignée de la WE pour éviter de doser les espèces produites par la CE.

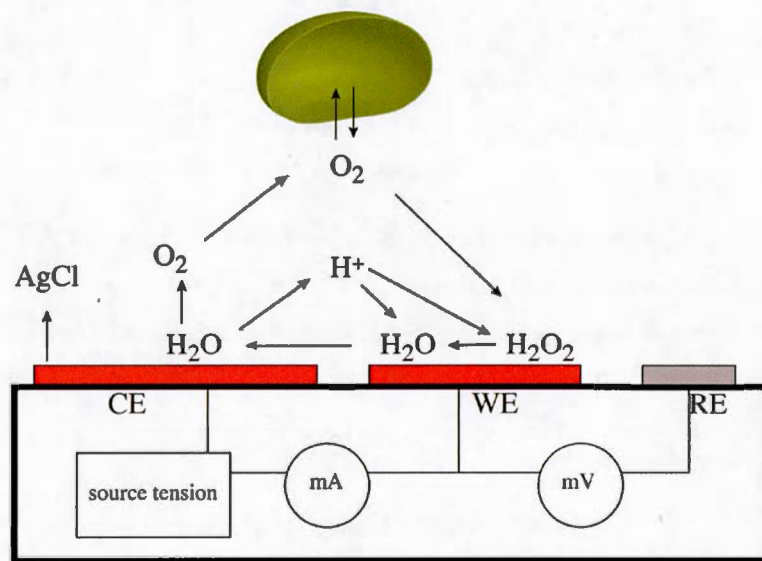
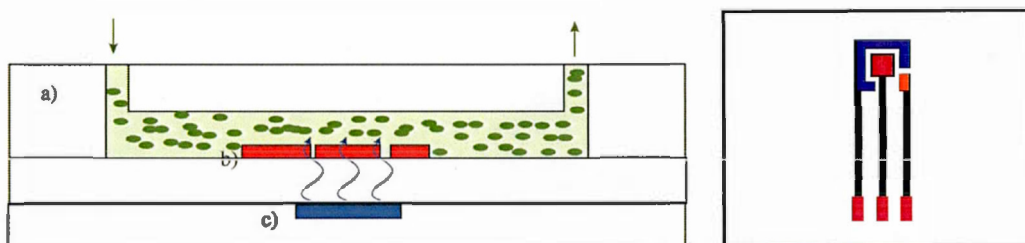


Figure 7.1 Schéma de principe du capteur d'oxygène.

### 7.2.3 Design du capteur

Un capteur opto-ampérométrique à base d'une OLED bleue et d'électrodes transparentes en nanofils métalliques a été fabriqué et testé pour la mesure d'oxygène d'une culture de phytoplancton verte CC125. La figure 7.2 montre à la fois la vue de dessus et la coupe transversale du dispositif fabriqué. Le capteur se compose d'une source de lumière, placée en dessous d'un capteur ampérométrique qui se trouve directement dans la cavité de détection. Le capteur ampérométrique a servi à la détection de l'oxygène présent dans la chambre de détection. L'OLED bleue a été la source de lumière dont les photons émis ont permis d'activer la photosynthèse des espèces de phytoplanctons qui ont été injectées dans la chambre de détection.



**Figure 7.2** Coupe transversale du capteur opto ampérométrique intégré (gauche) et la vue de dessus du capteur ampérométrique (droite). L'OLED (c) est placée en dessous du capteur ampérométrique (b) qui se trouve dans la cavité fluide (a). Le capteur ampérométrique se compose d'une WE (rouge), CE (bleue) et RE (orange).

### 7.2.4 Fabrication du capteur

L'intégration de ce capteur a été faite de manière hétérogène : les deux composants ont été fabriqués sur des supports séparés puis ils ont été alignés et assemblés l'un sur l'autre.

L'OLED a été fabriquée selon les mêmes paramètres de fabrication des OLEDs bleues à base de DPVBi décrits dans la section 4.3.2. Les mêmes géométries (surface active de  $9 \text{ mm}^2$ ) et le même nombre de pixels ont été fabriqués sur un même dispositif (24 pixels).



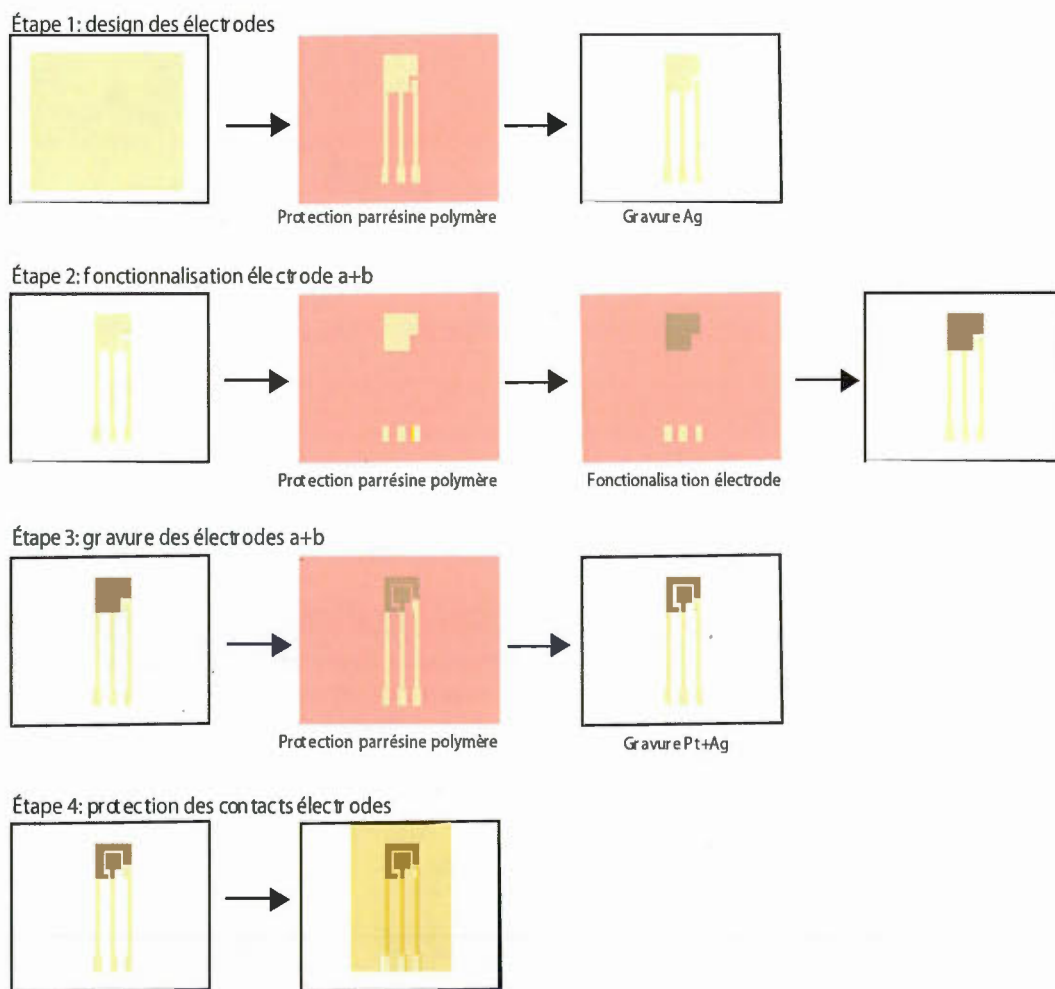
Parmi les diodes fabriquées sur la même lame, une seule OLED à la fois a été utilisée pour les mesures opto-ampérométrique avec les phytoplanctons.

Le capteur ampérométrique a été composé de 3 électrodes comme le montre la figure 7.2. L'électrode de travail étant en nanofil d'argent + platine, l'électrode de référence en argent et la contre électrode en argent + platine. Toutes les trois électrodes ont été fabriquées à partir d'une électrode conductrice en nanofils d'argent, elle-même fabriquée par filtration – transfert de nanofils d'argent synthétisés au préalable suivant la méthode décrite dans le chapitre précédent. Nous avons choisi d'utiliser des électrodes avec une conductivité d'environ  $6 \Omega/\square$  pour une transmittance de 75 %. Nous avons pris en compte qu'il nous fallait une électrode très conductrice pour éviter les chutes ohmiques et à la fois la plus transparente possible. Nous avons ainsi pensé que les électrodes de  $6 \Omega/\square$  avaient le meilleur compromis conductivité/transparence. Les motifs des électrodes qui ont constitué le capteur ont été fabriqués en 3 étapes de fabrication. Ces étapes sont représentées sur la figure 7.3.

Dans un premier temps, deux motifs d'électrodes ont été fabriqués (CE+WE reliées ensemble et REF) afin de seulement déposer le platine par galvanométrie sur l'électrode (CE+WE) non protégée (étape 1). Le dépôt électrochimique s'est fait en plongeant les nanofils non protégés dans une solution de sel de platine ( $1 \text{ mM H}_2\text{PtCl}_6 + 100 \text{ mM NaClO}_4$ ) et en appliquant directement un potentiel constant,  $-0,35 \text{ V vs Ag/AgCl (3 M)}$  jusqu'à obtenir un dépôt de  $1 \text{ mC/mm}^2$  (étape 2). Après avoir séparé la WE de la CE par gravure des NWs Ag-Pt (étape 3), nous avons protégé le dispositif complet par du polyimide (PI2555, HD Microsystems USA), laissant une zone non protégée dans chacune des électrodes qui ont constitué les 3 électrodes du capteur ampérométrique (étape 4). La plaque complète, avec les 3 électrodes et sa résine de polyimide qui protège les contacts électriques, a ensuite été recuite à  $250^\circ\text{C}$  pendant 15 min afin de dénaturer la résine et afin d'améliorer sa tenue mécanique sur le verre.

Pour finir, la cavité de détection en verre de 1 mm d'épaisseur a été fabriquée par-dessus le capteur ampérométrique. La cavité en verre, qui a servi de pseudo-chambre de détection pour les mesures, a été fabriquée à partir de lamelle de verre collée avec de l'époxy de manière à avoir par-dessus le capteur ampérométrique une cavité fermée de 1 mm

d'épaisseur et de 5 mm de largeur. Les entrées et sorties de cette pseudo puce microfluidique ont été bouché avec deux aiguilles de seringues et scellées avec d'une colle époxy sur le verre.



**Figure 7.3** Schéma de fabrication du capteur ampérométrique en nanofils métalliques.

### 7.2.1 Mesure d'oxygène

Les mesures opto-ampérométriques ont été faites à partir d'une culture de phytoplancton CC125 de  $1.5 \times 10^6$  cell/mL. Les phytoplanctons ont été concentrées à  $5 \times 10^6$  cell/mL par centrifugation avant d'être injectées dans le dispositif avec un pousse seringue. À partir de cette culture concentrée, deux solutions, une témoin et une avec 1  $\mu$ M de Diuron ont été préparées et laissées sous lumière avec une intensité de  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  pendant 30 min avant les mesures d'oxygène. Chacune de ces deux mesures a été faite en triplicata. Le système Oxylab a servi d'appareil commercial de comparaison.

Les mesures ont été prises à l'aide du potentiostat SP200 (Bio-logic, France). Un potentiel de -0,4 V par rapport à l'électrode de référence en AgNW a été imposé entre l'électrode de travail et la contre électrode. La mesure du courant obtenu est enregistrée en continu sans interruption durant la mesure pendant que l'OLED illumine avec la source de tension Keithley 2400 la chambre de mesure par une alternance d'une minute de lumière et une minute de noir.

## 7.3 Résultats et discussion

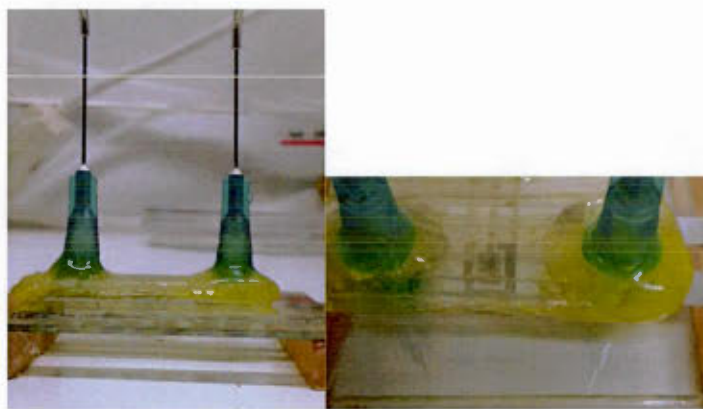
### 7.3.1 Caractéristiques générales du dispositif

La figure 7.4 montre deux photos du capteur ampérométrique seul juste après l'étape 3 de sa fabrication. Nous constatons que le dispositif électrique est totalement transparent, les contacts électriques en nanofils d'argent et les électrodes (même recouvertes de platine) gardent leur transparence. Nous distinguons toujours le logo de l'UQAM à travers le dispositif. Une photo du dispositif complet sur la figure 7.5 montre que le dispositif assemblé est plat, comme le capteur de fluorescence du chapitre 5. L'épaisseur totale du dispositif dépend essentiellement des plaques de verre qui sont les supports mécaniques, et de l'épaisseur du canal fluidique (1 mm d'épaisseur). L'épaisseur des électrodes fabriquée est de 150 nm avec une rugosité de 100 nm, avec des trous de plus de  $60 \mu\text{m}^2$  (moyenne de  $11 \mu\text{m}^2$ ). Les 3 électrodes ont une surface définie par la motifs non recouvert de la résine protectrice (65 nm d'épaisseur). La WE a une surface de  $4 \text{ mm}^2$ , la CE de  $10 \text{ mm}^2$ , et la RE de  $1,6 \text{ mm}^2$ . La CE a une surface deux fois plus importante que la WE afin de ne pas limiter la réaction de réduction d'oxygène à la WE. La CE est placée tout autour de la WE pour avoir les lignes de

champ électriques les plus directes afin de maximiser le flux de diffusion autour de la WE. Enfin, la RE est placée à 750  $\mu\text{m}$  de la WE. Une seule OLED de 3x3 mm parmi les 23 autres pixels disponibles sur la même plaque est alignée sous la WE et recouvre totalement sa surface de 2x2 mm.



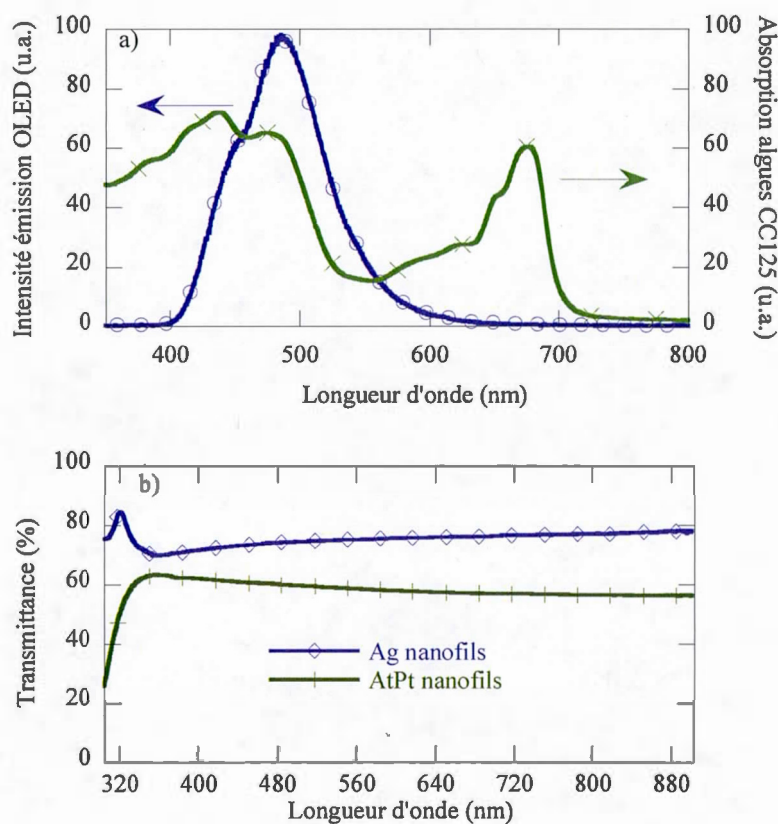
**Figure 7.4** Photos du capteur ampérométrique totalement en nanofils métalliques.



**Figure 7.5** Photos du dispositif complet, avec l'OLED placée directement sous la puce qui inclut le capteur ampérométrique.

La figure 7.6.a montre comme pour le capteur de fluorescence que l'OLED bleue à base de DPVBi est majoritairement absorbée par les algues vertes. Ainsi, les photons émis par l'OLED, et absorbés par les pigments des algues vertes, induiront la photosynthèse et la production d'oxygène dans le milieu. Directement placé au-dessus l'OLED, les nanofils électrodes d'Ag-Pt et d'Ag sont transparentes avec une transparence de plus de 60 % pour les

nanofils AgPt et de plus de 70 % pour les nanofils d'Ag entre 400 et 500 nm (figure 7.6.b). Les propriétés de transparence du capteur ampérométrique fabriqué prouvent la faisabilité et la validité d'intégration d'un tel capteur avec le capteur de fluorescence décrit dans le chapitre 5. L'OLED bleue peut servir à la fois pour la mesure de fluorescence et pour la mesure ampérométrique.



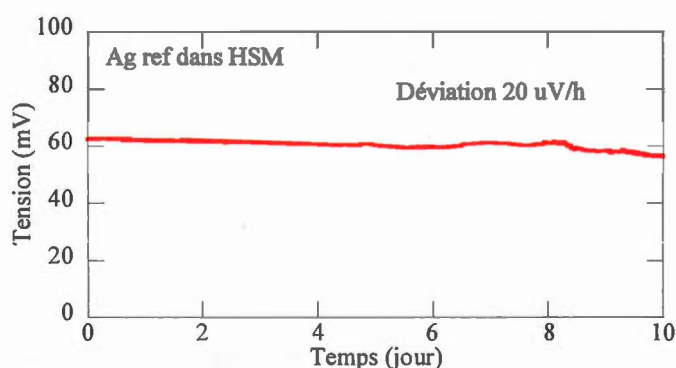
**Figure 7.6** a. Spectre d'émission de l'OLED bleue avec le spectre d'absorption des algues CC125. b. Spectre de transmission des électrodes du capteur ampérométrique.

### 7.3.2 Caractéristiques électrochimiques des 3 électrodes

#### 7.3.2.1 Électrode de Référence

Durant toutes les mesures ampérométriques faites avec les phytoplanctons, le potentiel imposé sur la WE a été fixé par rapport à la RE. Ainsi, la stabilité de potentiel de cette

électrode est primordiale pour le bon fonctionnement du capteur sur toute la durée des mesures. Nous avons ainsi testé la stabilité du potentiel de l'électrode en nanofils d'argent qui nous a servi de référence dans notre capteur. La figure 7.7 montre la stabilité de la RE au cours du temps sur plus de 10 jours dans le milieu de culture des phytoplanctons HSM par rapport à une électrode de référence standard de type Ag/AgCl (3 M). Nous constatons d'une part que le potentiel de la RE en nanofils d'argent est décalée de 61 mV par rapport à Ag/AgCl (3 M) dans du HSM et d'autre part que la déviation de potentiel est aussi peu que 20  $\mu$ V/h. Nous pouvons conclure que notre RE est très stable sur plus de 10 jours de test en continu. Cette stabilité nous a permis de pouvoir utiliser cette référence avec tous nos tests de mesure d'oxygène des phytoplanctons sur toute la durée des expériences.



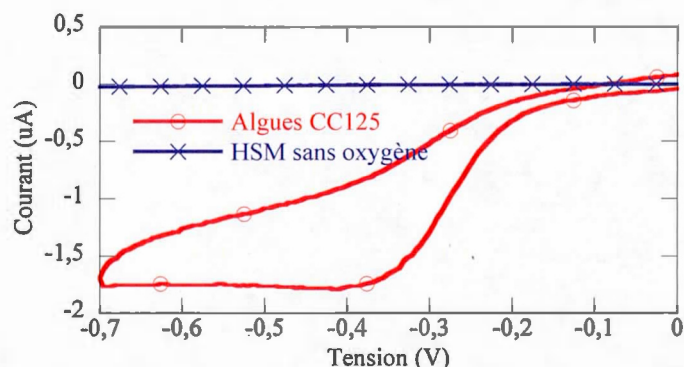
**Figure 7.7** Stabilité de l'électrode de référence dans du KCl 0,1M au court du temps par rapport à Ag/AgCl (3 M).

### 7.3.2.2 Électrode de travail

La figure 7.8 montre le fonctionnement du dispositif complet en voltampérométrie cyclique entre 0 et -0,7 V vs REF en AgNWs du milieu de culture HSM avec et sans phytoplancton. Nous constatons que sans phytoplancton et sans oxygène, il n'y a aucun courant de réduction. Le milieu de culture et tous ces composés nutritifs pour les phytoplanctons ne seront pas réduits au potentiel de fonctionnement du capteur lors de la mesure d'oxygène. Il n'y a donc aucun signal d'interférence pour les prochaines mesures d'oxygène des phytoplanctons dans le HSM. La réduction d'oxygène est par contre bien présente lorsque l'on a ajouté les phytoplanctons. À -0,4 V vs REF AgNWs, le dispositif



complet détectera seulement la présence d'oxygène des phytoplanctons dans leur milieu et les espèces contaminantes de l'eau polluée qui pourrait s'y réduire.



**Figure 7.8** Voltampérométrie cyclique entre 0 et -0,5 V vs AgO(nanofils) dans du HSM sans oxygène et avec des phytoplanctons.

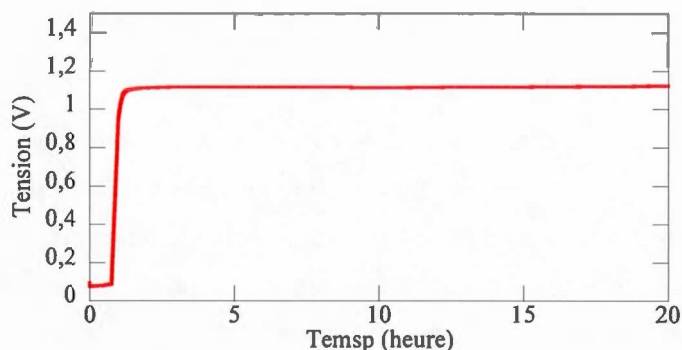
Nous pouvons nous poser la question du contact direct de nos électrodes avec la solution à détecter qui pourrait poser problème lors de la détection de l'oxygène. En effet, comme nous venons de le dire, notre électrode ne réagit pas avec le milieu de culture des phytoplanctons, mais peut très bien réduire les contaminants eux-mêmes à -0,4 V. Nous avons été conscients de cette problématique lors de notre fabrication. Cependant, nous avons laissé nos électrodes en contact avec les phytoplanctons plutôt que de fabriquer un capteur d'oxygène plus complexe avec les électrodes séparées par une membrane sélective (en PDMS, ou teflon). Le contact de nos électrodes avec le diuron n'a pas été un problème pour la détection de la variation d'oxygène. Nous n'avons pas fabriqué un capteur d'oxygène capable de mesurer le niveau d'oxygène dissout, mais nous avons plutôt un capteur de variation d'oxygène produite par les phytoplanctons. Même si les électrodes réduisent un contaminant inconnu qui a une concentration fixe, le signal de réduction sera plus important en intensité, mais ne portera pas préjudice sur la détection de notre capteur. En effet nous n'allons pas détecter une concentration en oxygène dans le milieu, mais plutôt mesurer la variation de la réduction d'oxygène des phytoplanctons. Cette variation est directement liée aux variations de production et de consommation d'oxygène des phytoplanctons. L'amplitude du signal de détection pourrait ainsi être différente en présence d'espèce réductrice sans pour

autant changer la cinétique de variation d'oxygène. Nous avons protégé nos électrodes de platine afin de protéger nos WE de possible oxydation chimique, le platine étant plus stable chimiquement que l'argent. Cependant, la REF n'est pas protégée et pourrait ainsi être altérée par les contaminants testés. Notre configuration de capteur a donc été suffisante pour la démonstration de la preuve de concept. Cependant, il faudrait à l'avenir séparer les électrodes en nanofils du milieu à tester pour protéger nos électrodes de possibles sources de contamination qui viendraient altérer les électrodes.

### 7.3.2.3 Contre Électrode

Comme nous l'avons expliqué dans la section 7.2, une contre réaction se passe à la contre électrode pour compenser le nombre d'électrodes généré à la WE. Le potentiostat a donc imposé un potentiel positif par rapport à la RE afin que le courant cathodique soit égal au courant anodique. Nous avons vu dans le chapitre 6 que l'électrode d'argent recouverte de platine avait à sa surface du platine et un alliage platine-argent. D'autre part, il y avait des imperfections dans le platine de platine. Par conséquent, le platine ne recouvrait pas toute la surface des nanofils. La figure 6.19 nous avait confirmé qu'en présence d'ion chlorure, il y avait deux réactions d'oxydation à la surface de cette électrode de 0 à 1,3 V vs Ag/AgCl (3 M). Ces résultats nous permettent d'expliquer ce que nous observons sur la figure 7.9. En effet, cette figure montre le courant imposé à la contre électrode au court du temps lorsqu'un courant de 1  $\mu\text{A}$  traverse cette électrode. La valeur de 1  $\mu\text{A}$  a été choisi puisqu'elle correspond au même ordre de grandeur d'intensité qu'on a eu au niveau de la WE dans une solution de HSM avec des phytoplanctons (figure 7.9). Dès le début, le potentiel observé est de 9 mV qui correspond bien à la formation d'AgCl avec les chlorures du HSM et l'argent de l'électrode. À partir d'un certain temps, lorsque tout l'argent a été oxydé, seule l'oxydation de l'eau avec le platine apparaît et persistera. Pour notre CE de 27.5 mm<sup>2</sup> avec un dépôt de platine de 1 mC/mm<sup>2</sup>, le temps d'oxydation complète de l'Ag en AgCl a été de 1 h. Après 1 h, la contre électrode à un potentiel de 1,1 V qui correspond au dégagement d'oxygène. Nous avons testé notre CE sur plus de 20 h afin de montrer la grande stabilité de cette électrode au cours du temps. Malgré la formation d'AgCl, l'électrode reste conductrice et reste stable. Ainsi, lorsque le capteur ampérométrique a fonctionné pour la mesure avec les

phytoplanctons, il y a eu dans un premier temps à la surface de la CE la formation d'AgCl puis, lorsque tout l'argent a été oxydé, nous avons eu oxydation de l'eau.



**Figure 7.9** Tension de la contre électrode au courant du temps pour un courant imposé de  $1 \mu\text{A}$ .

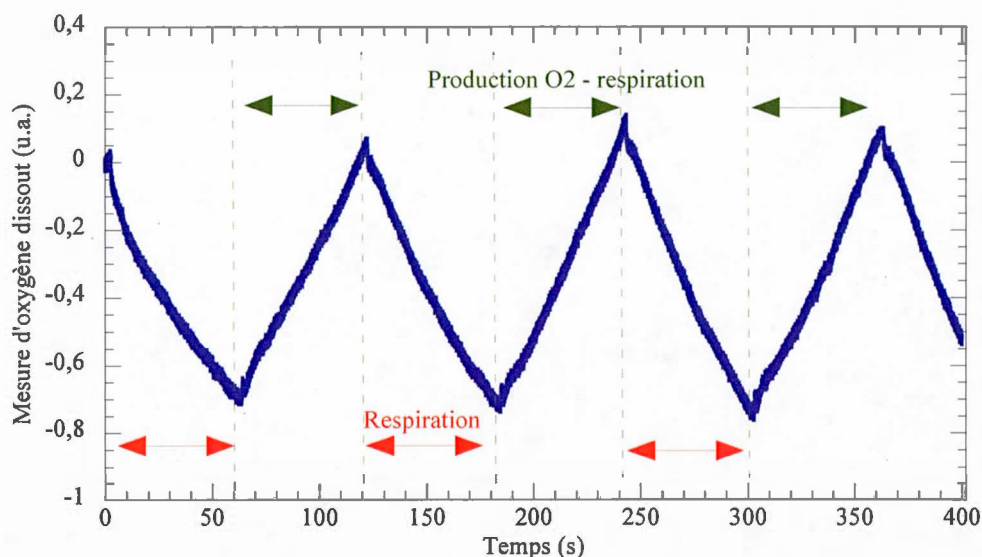
En conclusion, les imperfections du dépôt de platine sur les nanofils d'argent sont au final un avantage pour le fonctionnement du capteur d'oxygène. En effet, la consommation des capteurs est un facteur important à prendre en compte. Lors de la première heure de fonctionnement du capteur, le potentiel total entre la CE et la WE a été de 500 mV. Lorsque tout l'argent a été oxydé, le potentiel total est monté jusqu'à 1 500 mV, triplant ainsi la puissance consommée du capteur. Ainsi, nous pouvons conclure que notre capteur a nécessité une faible puissance pour 1 h de fonctionnement en continu, ce qui est largement suffisant pour les mesures d'oxygène et pour notre dispositif. Nous pouvons aussi envisager pour des fonctionnements sur des durées plus longues de greffer sur la CE une molécule chimique qui s'oxyderait à des potentiels inférieurs à 1,1 V. Ce serait une avenue possible pour améliorer encore la consommation du capteur.

### 7.3.3 Mesure d'oxygène des micro-algues

L'oxygène est un produit de la photosynthèse des espèces de phytoplanctons. Ainsi, les micro-algues et cyanobactéries produisent continuellement de l'oxygène lorsqu'elles ont suffisamment de lumière pour activer le processus de photosynthèse. Sous illumination, la concentration en oxygène dans le milieu augmente. L'OLED est ainsi la source lumineuse

indispensable pour les phytoplanctons et la photosynthèse. Comme tout organisme vivant, ces microorganismes respirent et consomment de l'oxygène sans interruption. Ainsi, la concentration en oxygène diminuera lorsque les phytoplanctons ont été plongés dans le noir. Les variations d'oxygène dans le milieu de culture de phytoplanctons sont donc un paramètre directement lié à l'activité cellulaire de ces microorganismes.

La figure 7.10 montre les variations d'oxygène dans le milieu avec les phytoplanctons sous des pulses d'OLED d'environ 1 min séparée de 1 min de noir. Nous remarquons bien les différentes phases lorsque l'OLED est allumée ou non. La diminution du courant est due à la respiration des phytoplanctons, alors que l'augmentation du courant reflète la production d'oxygène des phytoplanctons par la photosynthèse plus la respiration. Puisque les phytoplanctons respirent en permanence, la pente positive mesurée par le capteur est égale à la respiration plus la production d'oxygène. Nous remarquons que le démarrage et l'arrêt de la production d'oxygène sont quasi instantanés, suite à la présence ou non de lumière de l'OLED. Les pentes de production+respiration et de respiration sont constantes au cours du temps, reflétant une production d'oxygène et une respiration constante au cours du temps. En effet, la production d'oxygène dépend de la quantité de photons absorbés par les phytoplanctons. La production d'oxygène était donc constante avec une intensité constante de l'OLED. Le dispositif opto-ampérométrique à base de nanofils et d'OLED a donc été capable de mesurer les variations d'oxygène des phytoplanctons. Une intensité de  $31 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  a été suffisante pour pouvoir induire la production d'oxygène. Même à cette faible intensité de lumière, elle a pu être détectée par notre capteur.

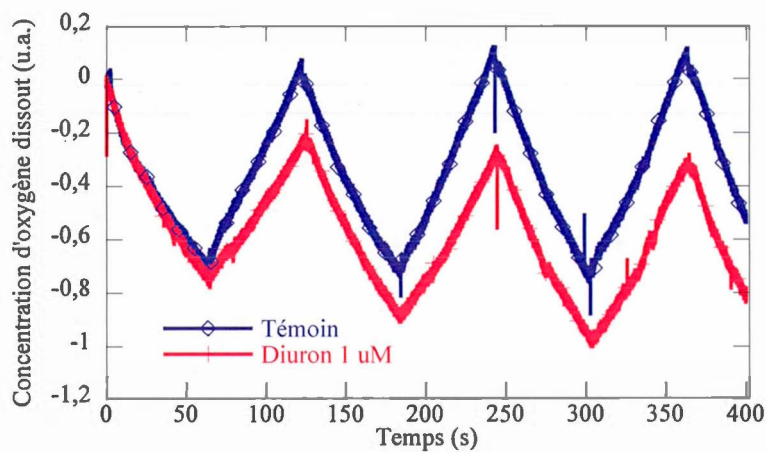


**Figure 7.10** Évolution de l'oxygène des phytoplanctons au court du temps sous des pulses lumineux de 1 min.

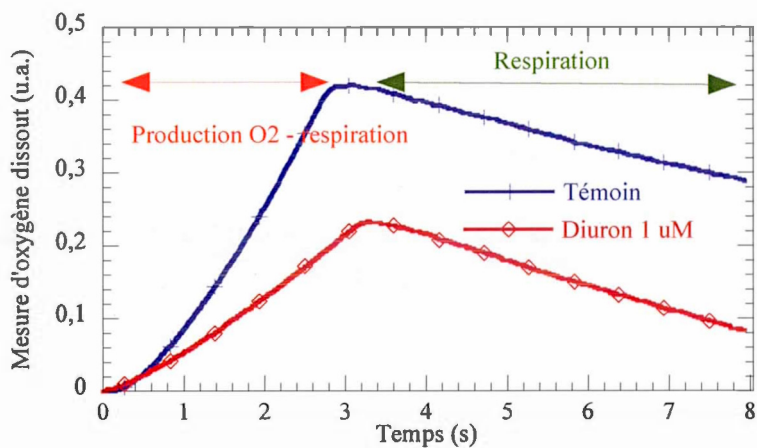
#### 7.3.4 Mesure de toxicité du diuron

Les résultats des mesures d'oxygène de l'appareil commercial PEA et de notre dispositif ont été tracés sur les figures 7.11 (notre système) et 7.12 (Oxylab). Les figures montrent le signal de réduction de l'oxygène dissout d'une culture de phytoplanctons de  $5 \times 10^6$  cell/mL sous des pulses lumineux. Un seul pulse lumineux d'environ 3 min a été utilisé pour l'oxylab alors que plusieurs pulses d'une minute ont été émis pour notre système. Pour les deux systèmes, une seule concentration de Diuron ( $1 \mu\text{M}$ ) a été testée puis comparée par rapport au témoin sans polluant.

Pour les deux appareils, nous observons une augmentation de la courbe lorsque les phytoplanctons sont exposés à la lumière et une diminution de la courbe lorsque les phytoplanctons sont dans le noir. Lorsque les phytoplanctons sont dans le noir, la respiration est le seul phénomène physiologique en activité. La pente descendante de la courbe est donc attribuée seulement à la respiration. Alors que la pente ascendante est attribuée à la fois à la respiration et à la production d'oxygène. Nous en déduisons la production d'oxygène en y ajoutant la valeur de la respiration (pente descendante) à la pente ascendante.



**Figure 7.11** Respiration et Production d'oxygène des phytoplanctons CC125 avec et sans présence de polluant (1uM Diuron) mesuré avec notre dispositif.



**Figure 7.12** Respiration et Production d'oxygène des algues CC125 avec et sans présence de polluant (1uM Diuron) mesuré avec l'Oxylab

Nous observons un temps de réponse plus long pour les mesures avec l'appareil commercial. Ce temps de transition est dû à la membrane en PTFE, que l'oxygène doit traverser avant d'être détecté. Cependant, cela n'a aucune influence sur les pentes ascendantes et descendantes. Elles sont continues au cours du temps (après le temps de



transition). Le taux de production et celui de respiration sont donc continus au cours du temps. En effet, la respiration et la production d'oxygène (pour une intensité constante) sont deux réactions constantes au court du temps. Nous avons ainsi calculé les pentes pour mesurer le taux de production et de respiration d'oxygène.

Nous remarquons sur ces deux figures que l'ajout du diuron n'a aucune influence sur la respiration des phytoplanctons. En effet, le Diuron n'agit pas directement sur les mitochondries, qui sont le siège de la respiration chez les phytoplanctons. Ainsi, une exposition de 30 min au diuron n'est pas suffisante pour voir un effet sur la respiration des phytoplanctons. Cependant, nous observons une diminution de la pente ascendante avec l'ajout du Diuron. Le diuron diminue ainsi la production d'oxygène. En effet, comme expliqué au préalable, le diuron bloque la photosynthèse. Ce phénomène peut se quantifier d'après nos mesures de production d'oxygène.

Pour ce faire, nous avons extrait dans le tableau 7.1 les variations d'oxygène les taux de production d'oxygène que l'on a normalisé par rapport au taux de respiration. De ces valeurs, nous pouvons quantifier la variation du taux de production d'oxygène lorsque les phytoplanctons sont exposées à 1  $\mu\text{M}$  de diuron pendant 30 min. En l'occurrence, pour les deux appareils, le diuron a induit une diminution de production d'oxygène de  $13 \pm 5\%$  pour l'oxylab et de  $15 \pm 3\%$  pour notre dispositif. Ce résultat est en adéquation avec nos prédictions. Nous avons mesuré le même paramètre dans les deux systèmes (production d'oxygène). L'effet toxique du Diuron doit être du même ordre de grandeur.

Nous remarquons que la production d'oxygène est beaucoup plus élevée avec l'appareil commercial par rapport à notre dispositif. La production d'oxygène dépend l'intensité de lumière. Avec notre OLED, nous illuminons les phytoplanctons avec une intensité de  $31 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , qui est beaucoup plus faible que les  $300 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  de l'appareil commercial. De plus, les spectres d'émission des sources de lumière ne sont pas les mêmes. L'oxylab illumine avec des LEDs à pics d'émission à 680 nm, tandis que nous avons une OLED bleue avec un spectre très large. L'intensité lumineuse a un effet sur le taux de production d'oxygène. Mais elle n'a pas d'influence sur l'action du polluant et donc sur l'évaluation de la toxicité du polluant. Une intensité lumineuse plus grande permettrait à

l'avenir d'augmenter le signal de détection de l'oxygène pour notre dispositif. Cette augmentation permettrait ainsi de diminuer le temps de lecture sous illumination, pour diminuer le temps de mesure en général.

**Tableau 7.1** Effet du diuron sur la production d'oxygène des algues CC125

	Production/Respiration		Effet du Diuron
	Témoin	1 $\mu$ M Diuron	
<b>Oxylab</b>	4,44	3,84	<b>13 <math>\pm</math> 5%</b>
<b>Notre dispositif</b>	2,23	1,91	<b>15 <math>\pm</math> 3%</b>

#### 7.4 Conclusion

En conclusion, nous avons montré que les électrodes transparentes en nanofils, associées aux OLEDs permettent d'intégrer un capteur opto-ampérométrique efficace. Cette technologie est parfaitement compatible avec l'intégration du capteur de fluorescence présenté dans le chapitre 5. Ce capteur opto-ampérométrique a parfaitement été capable de mesurer à la fois la respiration et la production d'oxygène d'une culture de phytoplancton verte *Chlamydomonas reinhardtii* (CC125). Ce capteur se trouve être le premier exemple de capteur d'oxygène optoélectronique à base d'OLED et d'électrodes transparentes dans la littérature. Enfin, la sensibilité du capteur fabriqué a été suffisante pour mesurer la toxicité de 1  $\mu$ M de diuron. Nous avons bien mesuré les mêmes variations de toxicité que l'appareil commercial Oxylab. Bien que développés pour mesurer l'oxygène des microorganismes, nous pouvons imaginer ce type de dispositif pour toutes autres applications de détection optoélectronique.

## CHAPITRE VIII

### CONCLUSION

#### 8.1 Sommaire des résultats

Notre principal objectif dans le cadre de cette thèse était de développer un dispositif qui mesure la toxicité de l'eau. En particulier, nous voulions d'une part démontrer tout le potentiel d'intégration de plusieurs détecteurs et plusieurs microorganismes dans un même dispositif, et d'autre part concevoir une plateforme microfluidique à base de phytoplanctons et de cyanobactéries qui intégrerait divers capteurs optoélectroniques. Les principaux résultats peuvent se résumer à travers les 3 preuves de concept qui ont été démontrées :

Potentiel d'une plateforme de mesure de toxicité : Nous avons proposé puis justifié la faisabilité et l'utilité du concept de dispositif intégrant à la fois plusieurs capteurs et plusieurs espèces de phytoplanctons. Nous avons prouvé la complémentarité de la mesure de fluorescence avec la mesure d'oxygène. Nous avons aussi montré la complémentarité des différentes espèces de phytoplanctons pour pouvoir améliorer la sensibilité du dispositif sur une plus vaste gamme de contaminants. Enfin, nous avons avancé l'idée que ce type de dispositif pourrait aussi donner une réponse plus spécifique en utilisant un traitement de données de type intelligence artificielle.

Intégration du capteur de fluorescence : Nous avons fait la preuve de faisabilité d'intégrer des capteurs de fluorescences à base de dispositifs organiques dans une puce microfluidique qui permettrait mesurer la fluorescence des phytoplanctons. Nous avons ainsi développé le premier dispositif à base d'OLEDs et d'OPD capable de mesurer la fluorescence de microorganismes. Plus particulièrement, ce dispositif a pu mesurer la variation de fluorescence induite par la présence d'un contaminant. La sensibilité de ce dispositif a été

testée avec le diuron, puis comparé avec un appareil commercial (Handy-PEA, Hansatech, King's Lynn, UK). Nous avons obtenu une sensibilité, avec le paramètre  $F_{inh}$  (adapté à notre dispositif), de 1.1 nM avec le Diuron, montrant tout le potentiel de sensibilité du capteur pour la détection de contaminants.

Intégration du capteur d'oxygène : Nous avons prouvé la faisabilité de fabrication du premier capteur d'oxygène transparent à base d'électrodes transparentes en nanofils. Intégré avec des OLEDs, nous avons conçu le premier capteur opto-ampérométrique. Le design et ses caractéristiques ont été optimisés pour la mesure des variations d'oxygène induites par des microorganismes. Cette technologie est parfaitement compatible avec notre capteur de fluorescence. Ce capteur a été capable de mesurer à la fois la respiration et la production d'oxygène d'une culture de phytoplanctons *Chlamydomonas reinhardtii* (CC125).

## 8.2 Discussion des principales contributions

Nous avons au cours de cette thèse proposé un nouveau concept de dispositif portable pour l'évaluation de la toxicité de l'eau. Dans le même temps, nous avons développé deux concepts de capteur intégré dans une puce fluide. Dans ce qui suit, nous allons discuter de l'impact de ces travaux :

### Plateforme de détection de toxicité de l'eau:

Notre plateforme multianalyses avec les phytoplanctons est une innovation et une avancée majeure dans la fabrication et l'utilisation des bio-essais dans les domaines de l'environnement, de la santé publique et le traitement des eaux usées industrielles, agricoles ou autres. Nous avons par conséquent déposé une déclaration d'invention afin de protéger notre invention pour une éventuelle commercialisation (7).

Notre approche permet de diminuer de façon importante les coûts, car seuls les échantillons toxiques seraient analysés de façon complète par des laboratoires spécialisés. De plus, la combinaison de la microfluidique et des dispositifs organiques pour la détection répond entièrement à la problématique de portabilité et de miniaturisation afin de limiter les manipulations d'opérateur sur le terrain. L'association de la multidétection en utilisant plusieurs différentes espèces permet d'avoir un test beaucoup plus fiable sur le plan qualitatif

de la mesure en augmentant la liste de polluants détectés, mais aussi permet d'envisager d'avoir un test sélectif sur les catégories de polluants présents puisque chaque espèce a une morphologie et une physiologie propre et donc leur sensibilité aux polluants diffère. Ce type de bio-essai serait le premier du genre par son caractère à la fois qualitatif et quantitatif et il répondrait au besoin d'avoir un test portable pour des mesures *in situ* tant dans les domaines de l'environnement, industriel, agroalimentaire et militaire

#### Intégration des différents capteurs:

Bien que l'intégration de capteurs de fluorescence à base de dispositifs organiques avait déjà été démontrée, il s'agissait de détections dans le visible, et pour des molécules chimiques seulement. Grâce à l'apport de nouveaux polymères conducteurs, nous avons pu extrapoler le potentiel des dispositifs organiques aux applications dans le proche infrarouge. De plus, nous avons été les premiers à démontrer la détection de microorganismes par un capteur de fluorescence intégré. Nous sommes ainsi les pionniers dans ce domaine, et croyons à l'énorme potentiel des dispositifs organiques pour la détection optique de microorganismes, cellules vivantes...

Afin d'aller encore plus loin dans le potentiel d'intégration des divers capteurs (fluorescence et électrique), nous avons développé les différents capteurs séparément en fonction de leur future intégration dans une même chambre de détection. Pour ce faire, nous avons réussi à développer le premier capteur opto-ampérométrique avec des électrodes totalement transparentes. Cette invention a fait l'objet de deux brevets (Canadien (4) et US/PCT (6)). Nous entamerons bientôt le développement de cette technologie dans la phase de transfert technologique en vue d'une possible commercialisation.

Cette approche de combiner une source de lumière avec un capteur électrique transparent peut se transposer à d'autres types de détections où la combinaison des capteurs optiques et électriques est souhaitée.

### Potentiel des électrodes en nanofils :

Nous sommes les premiers à utiliser les électrodes transparentes à base de nanomatériaux pour la détection électrochimique. Nous avons exploité leurs propriétés de rugosité et de porosité, tout en conservant celles de transparence et de conductivité pour la fabrication du premier capteur totalement transparent en nanofils. Nous avons ainsi montré tous les avantages et inconvénients que peuvent avoir ces électrodes.

Nous avons optimisé la fabrication des électrodes en vue de la conception d'un capteur d'oxygène pour les cellules de phytoplanctons. Nous pouvons ainsi utiliser le même principe de fabrication et les propriétés des électrodes pour d'autres applications. Le principe de fabrication, ainsi que les nouvelles possibilités applications dans le domaine de la santé, de l'environnement, de la chimie, de la biologie et bien d'autres, ont fait l'objet d'une nouvelle déclaration d'invention (6).

### 8.3 Amélioration et perspectives projet

Comme toutes preuves de concept, plusieurs améliorations peuvent être apportées au niveau de chaque partie du projet. Nous allons dans ce qui suit proposer plusieurs avenues possibles pour tenter d'optimiser le dispositif :

#### 8.3.1 Amélioration du matériel biologique

La sensibilité aux polluants de la plateforme de toxicité dépend essentiellement de la sensibilité des microorganismes à ces contaminants. Même si la preuve de concept de sensibilité au diuron a été faite avec l'algue CC125, nous avons vu au chapitre 3 qu'elle était la moins sensible des espèces testées. Ainsi, nous pouvons améliorer la sensibilité aux polluants en trouvant les espèces les plus sensibles pour chaque polluant ou catégorie de polluant. Deux stratégies peuvent être mises en place. D'une part, nous pouvons tester plusieurs espèces de phytoplanctons et trouver les plus sensibles. Cependant, cela peut prendre du temps, et peut s'avérer insuffisant. D'autre part, nous pouvons modifier génétiquement les phytoplanctons (53). Cette solution semble plus efficace, mais il faut connaître avant, le mode d'action du polluant et savoir très précisément quelle protéine modifier. De plus, cette méthode demande de gros moyens financiers.



Finalement, nous pouvons aussi améliorer la sensibilité des phytoplanctons en modifiant leur condition de croissance (145, 146). En effet, le milieu nutritif, tout comme la température ou les conditions de lumière des phytoplanctons modifient leur physiologie et par conséquent leur sensibilité.

### 8.3.2 Amélioration du capteur de fluorescence

Le capteur de fluorescence à base de dispositifs organiques peut être amélioré à deux niveaux : le design et les composants.

Au niveau du design, nous pouvons améliorer le couplage optique. En effet, l'efficacité de détection serait améliorée en diminuant la distance entre l'OLED et l'OPD. L'utilisation de plaque d'ITO plus mince associée à la diminution de la hauteur de la puce microfluidique réduirait la perte de signal de fluorescence. Afin de limiter le nombre de photons émis par l'OLED qui ne servent pas à la fluorescence (car l'émission des OLEDs est sur 180°) nous pouvons aussi utiliser des microlentilles (123) pour diriger les photons émis au niveau de la chambre de détection. Nous pouvons aussi améliorer ce couplage optique en augmentant la surface de pixel de l'OLED par rapport à celle des OPDs. Cette augmentation permettrait aussi de diminuer le problème d'alignement entre les différents composants. On aurait ainsi une meilleure reproductibilité entre les différentes chambres de détection sur le même dispositif.

Afin d'augmenter le rapport de distance entre l'OLED et l'OPD, nous pouvons diminuer la surface de l'OPD. En la diminuant, nous réduisons la capacité de l'OPD, et pouvons ainsi utiliser l'OPD avec une plus grande fréquence d'opération. L'OPD peut aussi être amélioré en changeant de matériaux polymères. Le PTB3 est le premier polymère conducteur qui a une très grande absorption à 685 nm. Les chimistes travaillent de pieds fermes afin de trouver de nouvelles molécules qui absorbent dans le proche infrarouge pour améliorer les cellules solaires. Nous pourrions ainsi tester ces nouveaux polymères pour notre application, afin d'augmenter l'EQE à 685 nm des OPDs tout en ayant un faible bruit dans le noir.

Nous pouvons améliorer l'OLED en déplaçant son pic d'émission plus vers 400-450 nm. De cette façon, l'intégralité du spectre d'émission de l'OLED serait absorbée par les phytoplanctons, augmentant ainsi l'efficacité du détecteur en général. Pour ce faire, nous pourrions changer la structure des couches de l'OLED afin d'avoir une émission plus dans le bleu. Tout comme pour les polymères conducteurs, les chimistes sortent chaque année de nombreuses molécules avec des caractéristiques spectrales nouvelles. Notamment, ils travaillent présentement sur des molécules avec une émission dans le bleu, dont la durée de vie et l'efficacité sont actuellement trop faibles. Le DPVBi nous semblait au début du projet être la meilleure solution puisque nous ne pouvions pas faire de coévaporation. Aujourd'hui, avec des équipements appropriés, nous pourrions tester plusieurs autres OLEDs (147, 148). Enfin, la fabrication du OLED avec un spectre décalé vers 400 nm permettrait d'enlever le filtre d'émission du capteur.

En effet, les caractéristiques spectrales et d'absorption des filtres optiques ont été le principal défi d'intégration du capteur de fluorescence. La suppression du filtre d'émission serait un premier pas. Cependant, dans l'éventualité où ces filtres seraient indispensables, nous devrions améliorer les caractéristiques spectrales des filtres optiques. Pour ce faire, nous pensons utiliser les filtres interférentiels. Ils possèdent de bien meilleures caractéristiques d'atténuation des longueurs d'onde de coupure, tout en ayant une grande transmittance pour les longueurs d'onde souhaitées. Malgré leur prix d'achat élevé pour des applications ponctuelles, telles que les sujets de recherche dans les universités, le coût de production à grande échelle est réduit considérablement.

### 8.3.3 Amélioration du capteur d'oxygène

Tout comme le capteur de fluorescence, nous pouvons améliorer à la fois le design et les composants du capteur d'oxygène :

Le couplage optique du capteur opto-ampérométrique peut être amélioré en diminuant les épaisseurs des substrats utilisés. La géométrie du capteur ampérométrique peut aussi être optimisée afin d'améliorer le profil des champs électriques. Une géométrie circulaire serait donc plus appropriée (cercle pour la WE avec un demi-cercle pour le CE autour de la WE). Enfin, une membrane de séparation (téflon par exemple), entre le milieu à tester et les

électrodes, permettrait d'obtenir une sélectivité pour l'oxygène tout en protégeant les électrodes. Les électrodes en argent seraient ainsi à l'abri de contaminants tels que l'ammoniac ou autre qui abîmeraient les électrodes.

De plus, nous pouvons améliorer les caractéristiques de l'OLED tout comme pour le capteur de fluorescence. L'absorption des photons peut être maximisée en déplaçant le pic d'émission de l'OLED vers 400 – 450 nm (pic d'absorption de la chlorophylle).

Additionnellement, nous pouvons améliorer les caractéristiques propres aux électrodes en nanofils pour la détection de l'oxygène. Nous avons au cours de cette thèse choisi des électrodes qui avaient le meilleur compromis conductivité/transparence. Nous savons que la longueur des nanofils a une influence sur les propriétés physiques des électrodes. Une plus grande longueur de nanofils augmente la transparence des électrodes à conductivité équivalente. Or pour la détection électrochimique, la surface spécifique est aussi un paramètre à prendre en compte. Ainsi, nous pourrions évaluer quel serait le meilleur compromis pour être à la fois sensible (= grande surface spécifique), transparent et conducteur.

Finalement, l'augmentation de la sensibilité des électrodes pourrait aussi être améliorée en recouvrant les nanofils d'argent d'un ou plusieurs matériaux. Ce recouvrement pourrait être des nanoparticules (pour augmenter la surface spécifique) ou un matériau plus efficace pour la détection de l'oxygène tel que le graphène par exemple. Les électrodes garderaient la conductivité électrique de l'argent, tout en ayant une grande surface de détection et une meilleure efficacité électrochimique grâce au recouvrement.

#### 8.3.4 Perspectives du projet

En plus des améliorations de chaque composante du dispositif (matériel biologique, capteur), nous pouvons proposer deux projets de recherche pour améliorer le concept général de la mesure de la toxicité de l'eau :

### Intégration des phytoplanctons dans le dispositif :

Les premiers tests du dispositif ont été pratiqués avec des phytoplanctons, cultivés en laboratoire dans des incubateurs. Une culture de phytoplanctons est composée d'organismes unicellulaires, dont le nombre varie en fonction de l'état d'avancement dans leur croissance, et d'un milieu nutritif, essentiellement composé de nutriments (azote, phosphate et potassium) et de métaux traces (fer, manganèse, magnésium, ...). Ces cultures sont maintenues dans des conditions très strictes de température et de lumière, sous un environnement stérile, afin de contrôler leur morphologie, physiologie et leur taux de croissance afin d'avoir à chaque mesure les mêmes conditions d'analyses. À l'heure actuelle, il n'existe pas de solution viable pour intégrer et conserver plusieurs espèces de phytoplanctons dans une plateforme microfluidique. C'est pourquoi l'application concrète et commerciale de notre dispositif est encore limitée par la question d'intégration du phytoplancton dans le dispositif microfluidique portable. Le principal objectif de ce projet serait d'intégrer et de conserver diverses espèces de phytoplanctons dans une plateforme microfluidique dédiée à la détection de polluants chimiques dans l'eau.

### Intégration de plusieurs autres capteurs dans le dispositif :

Les mesures d'oxygène et de fluorescence sont très sensibles pour mesurer les variations de l'activité photosynthétique des espèces de phytoplanctons. Cependant, la grande diversité des polluants, avec des modes d'action différents au niveau des cellules, ne permet pas à la fluorescence et à la mesure d'oxygène seules de donner une mesure sensible pour tous les polluants. Notamment, les nouvelles molécules chimiques et polluants émergents (nanomatériaux, produits sanitaires, pharmaceutiques...) n'ont pas directement un effet sur la photosynthèse. Ainsi, nous sommes conscients qu'il faut intégrer d'autres types de capteurs, afin de donner une indication plus complète de la toxicité sur les phytoplanctons. Comme nous l'avons décrit en introduction, la mesure de l'activité enzymatique, le pH, (etc..) sont d'autres paramètres que nous pourrions détecter. Cependant, la plupart des changements dans le métabolisme des cellules se produisent à l'intérieur des cellules. Nous proposons ainsi dans ce projet de développer et d'intégrer, en complément de la fluorescence et de la mesure

d'oxygène, des capteurs capables de mesurer d'autres variations dans le métabolisme des cellules causées par des contaminants.





## ANNEXE A

### LISTE DES PRODUITS CHIMIQUES UTILISÉS

Acétone	ACS	Anachemia
Acide bleu 129	306495	Sigma-Aldrich
Atrazine	pestanal®	Sigma-Aldrich
AgNO <sub>3</sub>	99.999%	Sigma-Aldrich
Alq <sub>3</sub>		Lumtec Corp.
BCP		Lumtec Corp.
Bleu de prusse	03899	Sigma-Aldrich
CuPc		Lumtec Corps
Crystal violet	34033	BDH standard stain
1,2-dichlorobenzène	anhydre	Sigma-Aldrich
Diruon	pestanal®	Sigma-Aldrich
DPVBi		Lumtec Corps
Gélatine de poisson		Sigma-Aldrich
IPA	ACS	Fisher
ITO	15 ohm/□	Colorado concept inc.
KBr	ACS	Fisher
KCl	ACS	Fisher
3-Mercaptopropyltrimethoxysilane		Sigma-Aldrich
NPB		Lumtec Corps
PEDOT-PSS		Baytron
Perchlorate de sodium	anhydre	Anachemia
P3HT		Solaris inc.
PCBM		Solaris inc.
PVP	PVP-40	Sigma-Aldrich

Simazine	pestanal®	Sigma-Aldrich
Solvant bleu 35		Sigma-Aldrich
H <sub>2</sub> PtCl <sub>6</sub>		Sigma-Aldrich
PTB3		Université Chicago
TEAP		Sigma-Aldrich
Vert de phtalocyanine		Sigma-Aldrich

## ANNEXE B

### PROCÉDURES DE LITHOGRAPHIE

#### B.1 Recette de lithographie de la résine positive S1811 (Shippley®)

Les plaques d'ITO préalablement nettoyées (bains successifs d'acétone, IPA, eau) et déshydratées sont recouvertes d'une couche de résine positif (S1811, 1.3  $\mu\text{m}$  d'épaisseur) dont les motifs des électrodes ont été dessinés en exposant aux UVs (4 s à 10  $\text{mW}/\text{cm}^2$ ) et développant les motifs exposés au MF-319 (Dow® USA). Les parties non recouvertes de cette résine protectrice sont ensuite gravées chimiquement dans du HCl pur pendant 5 min. Les électrodes en ITO sont ainsi prêtes pour la fabrication des dispositifs organiques dès que cette couche protectrice est enlevée par acétone.

Les électrodes, nettoyées dans les bains successifs d'acétone, IPA et d'eau 15 min chacun, sont déshydratées 150°C pendant 30 min avant leur utilisation. Juste après ces étapes de nettoyages, la surface est recouverte avec la résine positive S1813 (Rohm & Haas Electronic Material) par tournette à 2 300 rpm (acc. 1 000 rpm/s) de manière à avoir une épaisseur de 1.3  $\mu\text{m}$ . Après un recuit à 115°C pendant 1min, les échantillons sont exposés 18 s à une intensité de 4-8  $\text{mW}/\text{cm}^2$ . Juste après ils sont développés sous agitation dans un bain de MF-319 (Rohm & Haas Electronic Material, USA) jusqu'à dissolution complète des motifs exposés.

#### B.4 Gravure chimique des motifs

Chaque matériau dont les motifs ont dû être gravés possède sa propre solution de gravure. Ainsi, l'ITO, l'argent, le platine ont été gravés à partir de 3 solutions distinctes.

Cependant, ces trois gravures ont été des gravures chimiques anisotropes, dont le taux de gravure dépend des concentrations en acide respectif et à l'agitation de l'opérateur.

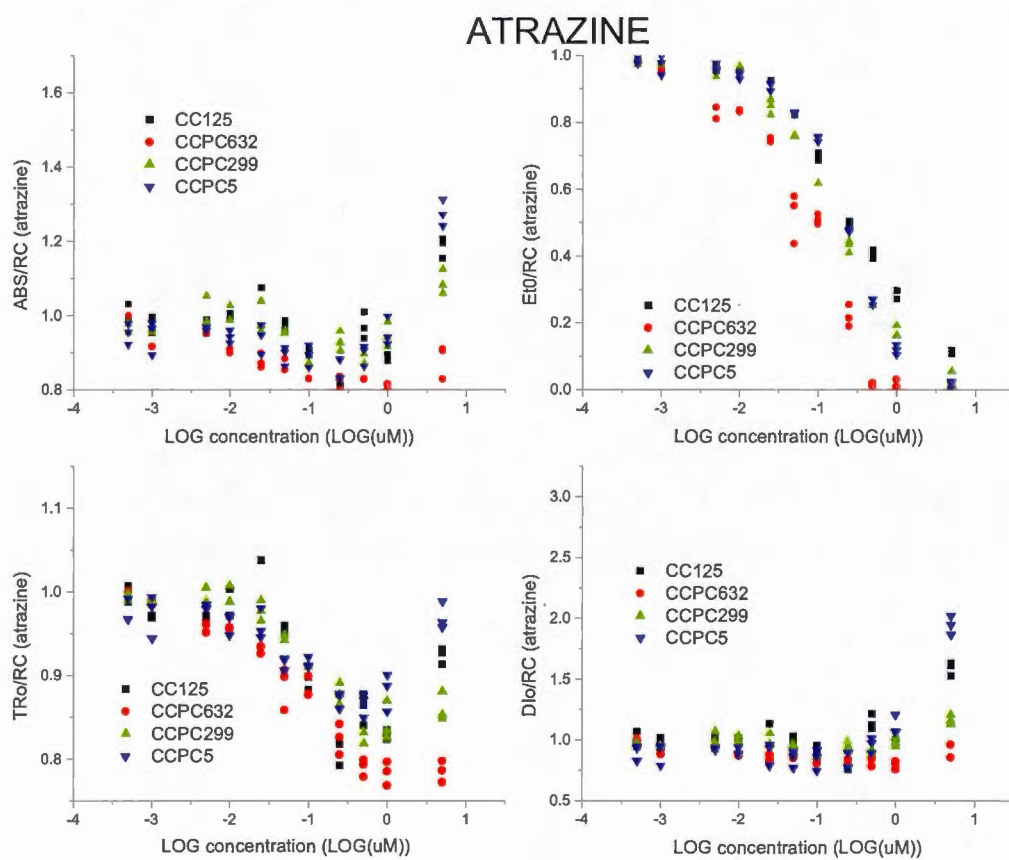
- Gravure de l'ITO : l'ITO a été gravé dans une solution d'acide chlorhydrique pure pendant 6 min à température ambiante
- Gravure de l'argent : les nanofils d'argent ont été gravés dans une solution de gravure ( $\text{HNO}_3 : \text{CH}_3\text{COOH} : \text{H}_3\text{PO}_4 : \text{H}_2\text{O}$ ) avec agitation manuelle.
- Gravure du platine : le platine a été gravé dans une solution d'eau régale ( $\text{HCl} : \text{HNO}_3 : \text{H}_2\text{O}$  dans les proportions 3 : 1 : 1) à 80°C sans agitation

#### B.5 Déprotection des échantillons

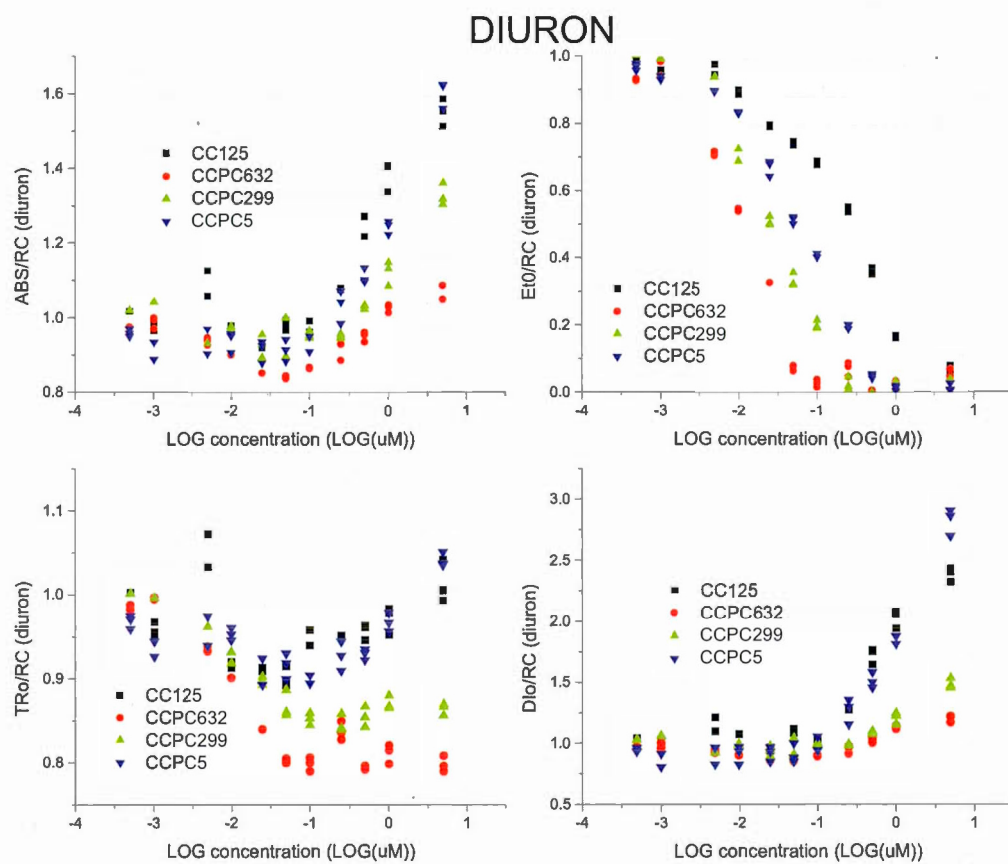
La résine de protection est enlevée en plongeant les échantillons dans une solution de stripper 5 min, suivit d'un nettoyage pendant 15 min dans l'acétone.

## ANNEXE C

### COURBES DOSES RÉPONSES DES PHYTOPLANKTONS AUX DIVERS POLLUANTS

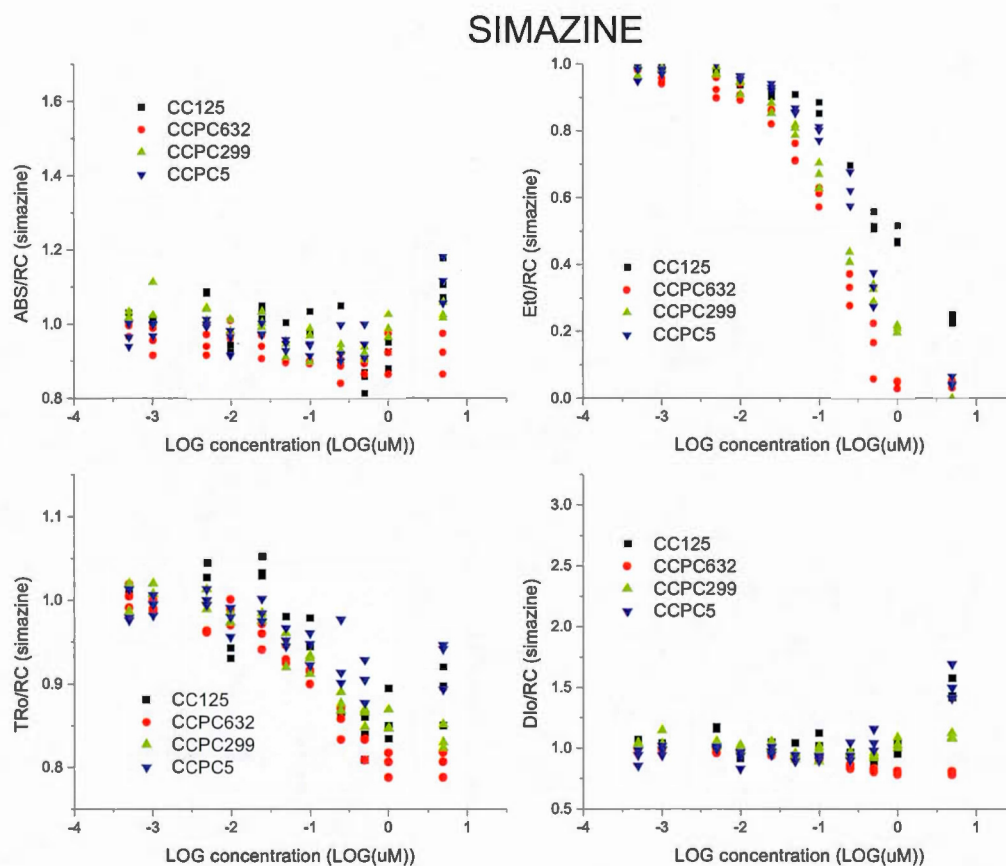


**Figure C.1**  $Et_0/RC$ ,  $ABS/RC$ ,  $DI_0/RC$  et  $Tr_0/RC$  des quatre phytoplanctons (CC125, CCPC5, CCPC299 et CCPC632) en fonction de la concentration en atrazine ( $\mu M$ ).

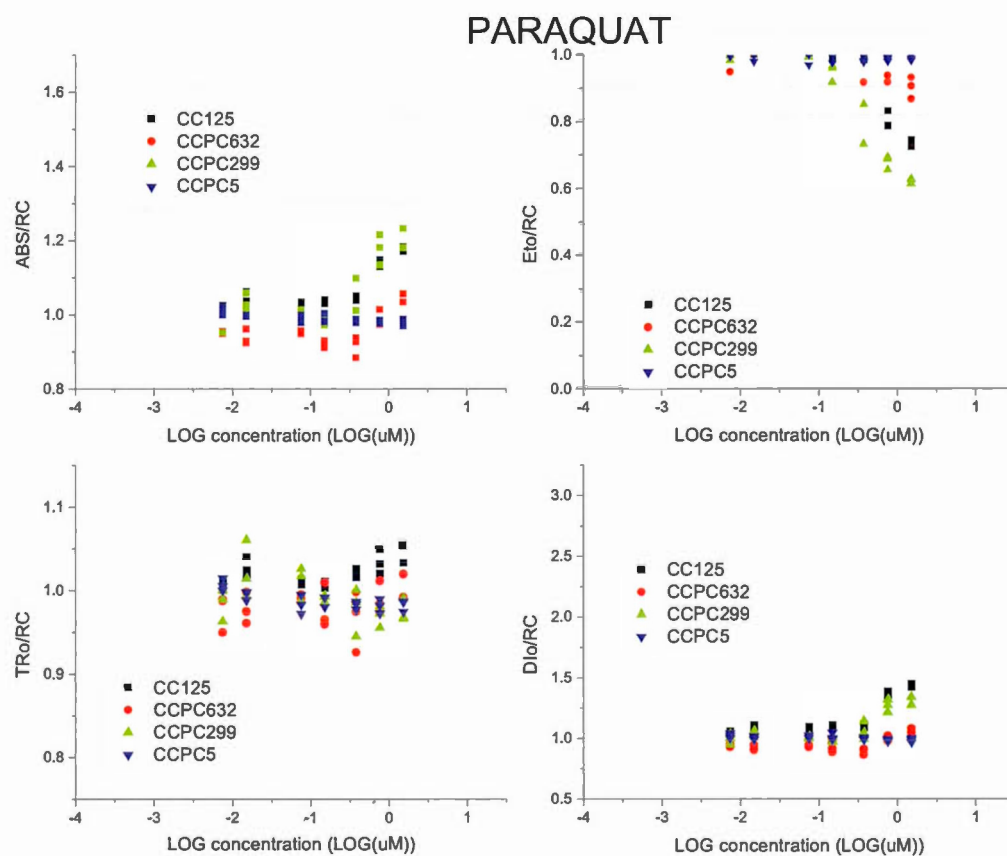


**Figure C.2**  $E_{t0}/RC$ ,  $ABS/RC$ ,  $Dio/RC$  et  $Tr_0/RC$  des quatre phytoplanctons (CC125, CCPC5, CCPC299 et CCPC632) en fonction de la concentration en diuron ( $\mu\text{M}$ ).





**Figure C.3**  $Et_0/RC$ ,  $ABS/RC$ ,  $DI_0/RC$  et  $Tr_0/RC$  des quatre phytoplanctons (CC125, CCPC5, CCPC299 et CCPC632) en fonction de la concentration en simazine ( $\mu M$ ).



**Figure C.4**  $E_{t0}/RC$ ,  $ABS/RC$ ,  $DI_{t0}/RC$  et  $Tr_{t0}/RC$  des quatre phytoplanctons (CC125, CCPC5, CCPC299 et CCPC632) en fonction de la concentration en paraquat ( $\mu M$ ).

## RÉFÉRENCES

1. Arora, A.; Simone, G.; Salieb-Beugelaar, G. B.; Kim, J. T.; Manz, A., Latest developments in micro total analysis systems. *Analytical Chemistry* **2010**, 82 (12), 4830-4847.
2. Lefèvre, F.; Yu, L.; Chodavarapu, V.; Juneau, P.; Izquierdo, R. In *Disposable organic fluorescence biosensor for water pollution monitoring*, San Francisco, CA, San Francisco, CA, 2011; pp 13-18.
3. Lefèvre, F.; Chalifour, A.; Yu, L.; Chodavarapu, V.; Juneau, P.; Izquierdo, R., Algal fluorescence sensor integrated into a microfluidic chip for water pollutant detection. *Lab Chip* **2012**, 12 (4), 787-793.
4. Lefèvre, F.; Izquierdo, R.; Juneau, P. Methods and Apparatuses for evaluating water pollution. CA No. 2,775,297, 2012.
5. Lefèvre, F.; Izquierdo, R.; Juneau, P. Methods and Apparatuses for evaluating water pollution. PCT/US/61/637,546, 2012.
6. Lefèvre, F.; Izquierdo, R.; Juneau, P., Déclaration d'intention: Capteurs électriques transparents et méthode de fabrication. soumise le 9 septembre, 2013.
7. Lefèvre, F.; Izquierdo, R.; Juneau, P., Déclaration d'invention: dispositif portable pour la mesure de la toxicité de l'eau. In *soumise le 9 septembre*, 2013.
8. Ministère du Développement durable, E., Faune et Parcs L'eau au Québec : une ressource à protéger. <http://www.mddefp.gouv.qc.ca/eau/inter.htm>.
9. Loi canadienne sur la protection de l'environnement. In *L.C. 1999, ch 33*, 1999.
10. MDDEP Ministère du développement durable, de l'environnement et des parcs, Gouvernement du Québec, Critères de qualité de l'eau de surface au Québec. [http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/criteres\\_eau/index.htm](http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/criteres_eau/index.htm).
11. MDDEP Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés. <http://www.mddep.gouv.qc.ca/sol/terrains/politique/> (récupéré le 31 août).
12. CEAEQ Les méthodes d'analyse en usage au CEAEQ. [http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/methodes/methode\\_para.htm](http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/methodes/methode_para.htm) (récupéré le août 2013).
13. Pacáková, V.; Štulík, K.; Jiskra, J., High-performance separations in the determination of triazine herbicides and their residues. *Journal of Chromatography A* **1996**, 754 (1-2), 17-31.
14. Rodríguez, J. A.; Aguilar-Arteaga, K.; Díez, C.; Barrado, E., Recent Advances in the Extraction of Triazines from Water Samples. In *Herbicides - Advances in Research*, Intech: 2013.
15. Stephan, C. E. *Guidelines for Deriving Numerical National Water Quality for the Protection of Aquatic Organisms and Their Uses*; U.S. EAP Office of Research and Development, Environmental Research Laboratories: 1985; p 68.

16. MDDEP Ministère du développement durable, de l'environnement et des parcs, Gouvernement du Québec, Critères de qualité de l'eau de surface au Québec, annexe 11. [http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/criteres\\_eau/index.htm](http://www.mddep.gouv.qc.ca/eau/criteres_eau/index.htm).
17. Environmental Protection Agency; EAP, U. S. *Technical Support Document for Water Quality-based toxics Control*; Office of Water U.S. EAP: Washington D.C., 1991; p 145.
18. Rodriguez-Mozaz, S.; Lopez De Alda, M. J.; Barceló, D., Biosensors as useful tools for environmental analysis and monitoring. *Anal. Bioanal. Chem.* **2006**, *386* (4), 1025-1041.
19. Baselt, D. R.; Lee, G. U.; Natesan, M.; Metzger, S. W.; Sheehan, P. E.; Colton, R. J., A biosensor based on magnetoresistance technology. *Biosensors and Bioelectronics* **1998**, *13* (7-8), 731-739.
20. Hrapovic, S.; Liu, Y.; Male, K. B.; Luong, J. H. T., Electrochemical Biosensing Platforms Using Platinum Nanoparticles and Carbon Nanotubes. *Analytical Chemistry* **2004**, *76* (4), 1083-1088.
21. Drummond, T. G.; Hill, M. G.; Barton, J. K., Electrochemical DNA sensors. *Nature Biotechnology* **2003**, *21* (10), 1192-1199.
22. Wang, J., Electrochemical glucose biosensors. *Chemical Reviews* **2008**, *108* (2), 814-825.
23. Ahuja, S. K.; Ferreira, G. M.; Moreira, A. R., Utilization of enzymes for environmental applications. *Critical Reviews in Biotechnology* **2004**, *24* (2-3), 125-154.
24. Liu, J.; Yin, L.; Dai, Y.; Jiang, F.; Niu, J., Application of electrochemical enzyme biosensor in environmental pollution monitoring. *Progress in Chemistry* **2012**, *24* (1), 131-143.
25. Tortolini, C.; Mazzei, F.; Carlucci, L., Electrochemical biosensors for environmental monitoring. *International Journal of Environment and Health* **2012**, *6* (2), 93-110.
26. Zhang, M.; Mullens, C.; Gorski, W., Coimmobilization of dehydrogenases and their cofactors in electrochemical biosensors. *Analytical Chemistry* **2007**, *79* (6), 2446-2450.
27. Parellada, J.; Narváez, A.; López, M. A.; Domínguez, E.; Fernández, J. J.; Pavlov, V.; Katakis, I., Amperometric immunosensors and enzyme electrodes for environmental applications. *Analytica Chimica Acta* **1998**, *362* (1), 47-57.
28. Raman Suri, C.; Boro, R.; Nangia, Y.; Gandhi, S.; Sharma, P.; Wangoo, N.; Rajesh, K.; Shekhawat, G. S., Immunoanalytical techniques for analyzing pesticides in the environment. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* **2009**, *28* (1), 29-39.
29. Osbild, D.; Babut, M.; Vasseur, P., Biosensors for environmental monitoring and water control. *Les biocapteurs appliques au controle des eaux* **1995**, *8* (4), 505-538.
30. Brayner, R.; Couté, A.; Livage, J.; Perrette, C.; Sicard, C., Micro-algal biosensors. *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *401* (2), 581-597.
31. Eltzov, E.; Marks, R. S., Whole-cell aquatic biosensors. *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *400* (4), 895-913.
32. Wang, W.; Freemark, K., The use of plants for environmental monitoring and assessment. *Ecotox. Environ. Safe.* **1995**, *30* (3), 289-301.

33. Zheng, G.; Wang, Y.; Qin, J., Microalgal motility measurement microfluidic chip for toxicity assessment of heavy metals. *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *404* (10), 3061-3069.
34. Tibuzzi, A.; Rea, G.; Pezzotti, G.; Esposito, D.; Johanningmeier, U.; Giardi, M. T., A new miniaturized multiarray biosensor system for fluorescence detection. *J. Phys.: Condens. Matter* **2007**, *19* (39).
35. Touloupakis, E.; Giannoudi, L.; Piletsky, S. A.; Guzzella, L.; Pozzoni, F.; Giardi, M. T., A multi-biosensor based on immobilized Photosystem II on screen-printed electrodes for the detection of herbicides in river water. *Biosensors and Bioelectronics* **2005**, *20* (10 SPEC. ISS.), 1984-1992.
36. Varsamis, D. G.; Touloupakis, E.; Morlacchi, P.; Ghanotakis, D. F.; Giardi, M. T.; Cullen, D. C., Development of a photosystem II-based optical microfluidic sensor for herbicide detection. *Talanta* **2008**, *77* (1), 42-47.
37. Buonasera, K.; Pezzotti, G.; Scognamiglio, V.; Tibuzzi, A.; Giardi, M. T., New platform of biosensors for prescreening of pesticide residues to support laboratory analyses. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58* (10), 5982-5990.
38. Juneau, P.; Qiu, B.; Deblois, C. P., Use of chlorophyll fluorescence as a tool for determination of herbicide toxic effect: Review. *Toxicol. Environ. Chem.* **2007**, *89* (4), 609-625.
39. Podola, B.; Melkonian, M., Selective real-time herbicide monitoring by an array chip biosensor employing diverse microalgae. *J. Appl. Phycol.* **2005**, *17* (3), 261-271.
40. Rojíčková-Padrťová, R.; Maršálek, B., *Chemosphere* **1999**, *38* (14), 3329-3338.
41. Chouteau, C.; Dzyadevych, S.; Chovelon, J. M.; Durrieu, C., Development of novel conductometric biosensors based on immobilised whole cell *Chlorella vulgaris* microalgae. *Biosensors and Bioelectronics* **2004**, *19* (9), 1089-1096.
42. Chouteau, C.; Dzyadevych, S.; Durrieu, C.; Chovelon, J. M., A bi-enzymatic whole cell conductometric biosensor for heavy metal ions and pesticides detection in water samples. *Biosensors and Bioelectronics* **2005**, *21* (2), 273-281.
43. Durrieu, C.; Chouteau, C.; Barthet, L.; Chovelon, J. M.; Tran-Minh, C., A bi-enzymatic whole-cell algal biosensor for monitoring waste water pollutants. *Analytical Letters* **2004**, *37* (8), 1589-1599.
44. Durrieu, C.; Guedri, H.; Fremion, F.; Volatier, L., Unicellular algae used as biosensors for chemical detection in Mediterranean lagoon and coastal waters. *Research in Microbiology* **2011**, *162* (9), 910-914.
45. Durrieu, C.; Tran-Minh, C.; Chovelon, J. M.; Barthet, L.; Chouteau, C.; Védrine, C., Algal biosensors for aquatic ecosystems monitoring. *EPJ Applied Physics* **2006**, *36* (2), 205-209.
46. Berezhetsky, A. L.; Durrieu, C.; Chovelon, J. M.; Dzyadevych, S. V.; Tran-Minh, C. In *Whole-cell conductometric biosensor for determination heavy-metals in water*, Lyon, Lyon, 2007; pp 1421-1424.
47. Schubnell, D.; Lehmann, M.; Baumann, W.; Rott, F. G.; Wolf, B.; Beck, C. F., An ISFET-algal (*Chlamydomonas*) hybrid provides a system for eco- toxicological tests. *Biosensors and Bioelectronics* **1999**, *14* (5), 465-472.
48. Shitanda, I.; Takamatsu, S.; Watanabe, K.; Itagaki, M., Amperometric screen-printed algal biosensor with flow injection analysis system for detection of environmental toxic compounds. *Electrochim. Acta* **2009**, *54* (21), 4933-4936.

49. Zamaleeva, A. I.; Sharipova, I. R.; Shamagsumova, R. V.; Ivanov, A. N.; Evtugyn, G. A.; Ishmuchametova, D. G.; Fakhrullin, R. F., A whole-cell amperometric herbicide biosensor based on magnetically functionalised microalgae and screen-printed electrodes. *Anal. Methods* **2011**, *3* (3), 509-513.
50. Shitanda, I.; Takada, K.; Sakai, Y.; Tatsuma, T., Compact amperometric algal biosensors for the evaluation of water toxicity. *Analytica Chimica Acta* **2005**, *530* (2), 191-197.
51. Dewez, D.; Boucher, N.; Bellemare, F.; Popovic, R., Use of different fluorometric systems in the determination of fluorescence parameters from spinach thylakoid membranes being exposed to atrazine and copper. *Toxicol. Environ. Chem.* **2007**, *89* (4), 655-664.
52. Scognamiglio, V.; Raffi, D.; Lambreva, M.; Rea, G.; Tibuzzi, A.; Pezzotti, G.; Johanningmeier, U.; Giardi, M. T., Chlamydomonas reinhardtii genetic variants as probes for fluorescence sensing system in detection of pollutants. *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, *394* (4), 1081-1087.
53. Giardi, M. T.; Scognamiglio, V.; Rea, G.; Rodio, G.; Antonacci, A.; Lambreva, M.; Pezzotti, G.; Johanningmeier, U., Optical biosensors for environmental monitoring based on computational and biotechnological tools for engineering the photosynthetic D1 protein of Chlamydomonas reinhardtii. *Biosens. Bioelectron.* **2009**, *25* (2), 294-300.
54. Bolhar-Nordenkamp, H. R.; Long, S. P.; Baker, N. R.; Oquist, G.; Schreiber, U.; Lechner, E. G., Chlorophyll Fluorescence as a Probe of the Photosynthetic Competence of Leaves in the Field: A Review of Current Instrumentation. *Functional Ecology* **1989**, *3* (4), 497-514.
55. Thrush, E.; Levi, O.; Cook, L. J.; Deich, J.; Kurtz, A.; Smith, S. J.; Moerner, W. E.; Harris Jr, J. S., Monolithically integrated semiconductor fluorescence sensor for microfluidic applications. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2005**, *105* (2), 393-399.
56. Manz, A.; Graber, N.; Widmer, H. M., Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing. *Sensors and Actuators: B. Chemical* **1990**, *1* (1-6), 244-248.
57. Bashir, R., BioMEMS: State-of-the-art in detection, opportunities and prospects. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2004**, *56* (11), 1565-1586.
58. Becker, H.; Locascio, L. E., Polymer microfluidic devices. *Talanta* **2002**, *56* (2), 267-287.
59. Sueoka, N.; Chiang, K. S.; Kates, J. R., Deoxyribonucleic acid replication in meiosis of Chlamydomonas reinhardtii. I. Isotopic transfer experiments with a strain producing eight zoospores. *Journal of Molecular Biology* **1967**, *25* (1), 47-66.
60. Stein, J. R., *Culture Methods and Growth Measurements*. Cambridge University Press: Cambridge, 1973.
61. Metz, J. G.; Pakrasi, H. B.; Seibert, M.; Arntzen, C. J., Evidence for a dual function of the herbicide-binding D1 protein in photosystem II. *FEBS Letters* **1986**, *205* (2), 269-274.
62. Duke, S. O.; Powles, S. B., Glyphosate: A once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science* **2008**, *64* (4), 319-325.



63. Ananieva, E. A.; Christov, K. N.; Popova, L. P., Exogenous treatment with Salicylic acid leads to increased antioxidant capacity in leaves of barley plants exposed to Paraquat. *Journal of Plant Physiology* **2004**, *161* (3), 319-328.
64. Force, L.; Critchley, C.; Van Rensen, J. J. S., New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants 1. The effect of illumination on the fluorescence parameters of the JIP-test. *Photosynth. Res.* **2003**, *78* (1), 17-33.
65. Whitesides, G. M.; Ostuni, E.; Takayama, S.; Jiang, X.; Ingber, D. E., Soft lithography in biology and biochemistry. 2001; Vol. 3, pp 335-373.
66. Wu, C. C.; Wu, C. I.; Sturm, J. C.; Kahn, A., Surface modification of indium tin oxide by plasma treatment: An effective method to improve the efficiency, brightness, and reliability of organic light emitting devices. *Applied Physics Letters* **1997**, *70* (11), 1348-1350.
67. Warren, L. F.; Ryang, H.-S. Composition for a light filtering material. US Patent 7,481,954 B2, 2009.
68. Korte, K. E.; Skrabalak, S. E.; Xia, Y., Rapid synthesis of silver nanowires through a CuCl- or CuCl<sub>2</sub>-mediated polyol process. *Journal of Materials Chemistry* **2008**, *18* (4), 437-441.
69. Juneau, P.; Dewez, D.; Matsui, S.; Kim, S. G.; Popovic, R., Evaluation of different algal species sensitivity to mercury and metolachlor by PAM-fluorometry. *Chemosphere* **2001**, *45* (4-5), 589-598.
70. Perron, M. C.; Juneau, P., Effect of endocrine disrupters on photosystem II energy fluxes of green algae and cyanobacteria. *Environmental Research* **2011**, *111* (4), 520-529.
71. Podola, B.; Nowack, E. C. M.; Melkonian, M., The use of multiple-strain algal sensor chips for the detection and identification of volatile organic compounds. *Biosensors and Bioelectronics* **2004**, *19* (10), 1253-1260.
72. Podola, B.; Melkonian, M., Genetic Programming as a tool for identification of analyte-specificity from complex response patterns using a non-specific whole-cell biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* **2012**, *33* (1), 254-259.
73. Bachmann, T. T.; Leca, B.; Vilatte, F.; Marty, J. L.; Fournier, D.; Schmid, R. D., Improved multianalyte detection of organophosphates and carbamates with disposable multielectrode biosensors using recombinant mutants of *Drosophila* acetylcholinesterase and artificial neural networks. *Biosensors and Bioelectronics* **2000**, *15* (3-4), 193-201.
74. Cortina-Puig, M.; Istamboulie, G.; Noguer, T.; Marty, J.-L., Analysis of Pesticide Mixtures Using Intelligent Biosensors. In *Intelligent and Biosensors*, Somerset, V. S., Ed. InTech: 2010.
75. Maxwell, K.; Johnson, G. N., Chlorophyll fluorescence - A practical guide. *J. Exp. Bot.* **2000**, *51* (345), 659-668.
76. Mattoo, A. K.; Pick, U.; Hoffman-Falk, H.; Edelman, M., The rapidly metabolized 32,000-dalton polypeptide of the chloroplast is the 'proteinaceous shield' regulating photosystem II electron transport and mediating diuron herbicide sensitivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **1981**, *78* (3 I), 1572-1576.
77. Basheer, I. A.; Hajmeer, M., Artificial neural networks: Fundamentals, computing, design, and application. *Journal of Microbiological Methods* **2000**, *43* (1), 3-31.

78. Baxt, W. G., Application of artificial neural networks to clinical medicine. *Lancet* **1995**, 346 (8983), 1135-1138.
79. Hunt, K. J.; Sbarbaro, D.; Zbikowski, R.; Gawthrop, P. J., Neural networks for control systems - A survey. *Automatica* **1992**, 28 (6), 1083-1112.
80. Schaller, E.; Bosset, J. O.; Escher, F., 'Electronic noses' and their application to food. *LWT - Food Science and Technology* **1998**, 31 (4), 305-316.
81. Venkatasubramanian, V.; Rengaswamy, R.; Kavuri, S. N.; Yin, K., A review of process fault detection and diagnosis part III: Process history based methods. *Computers and Chemical Engineering* **2003**, 27 (3), 327-346.
82. Walters, W. P.; Murcko, M. A., Prediction of 'drug-likeness'. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2002**, 54 (3), 255-271.
83. Xu, R.; Wunsch II, D., Survey of clustering algorithms. *IEEE Transactions on Neural Networks* **2005**, 16 (3), 645-678.
84. Hagan, M. T.; Menhaj, M. B., *IEEE Transactions on Neural Networks* **1994**, 5 (6), 989-993.
85. Kermani, B. G.; Schiffman, S. S.; Nagle, H. T., *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2005**, 110 (1), 13-22.
86. Gregor, J.; Maršálek, B., Freshwater phytoplankton quantification by chlorophyll a: A comparative study of in vitro, in vivo and in situ methods. *Water Research* **2004**, 38 (3), 517-522.
87. Vyhnalek, V.; Fisar, Z.; Fisarova, A.; Komarkova, J., In vivo fluorescence of chlorophyll A: Estimation of phytoplankton biomass and activity in Rimov Reservoir (Czech Republic). *Water Science and Technology* **1993**, 28 (6), 29-33.
88. Juneau, P.; El Berdey, A.; Popovic, R., PAM fluorometry in the determination of the sensitivity of *Chlorella vulgaris*, *Selenastrum capricornutum*, and *Chlamydomonas reinhardtii* to copper. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **2002**, 42 (2), 155-164.
89. Juneau, P.; Harrison, P. J., Comparison by PAM fluorometry of photosynthetic activity of nine marine phytoplankton grown under identical conditions. *Photochemistry and Photobiology* **2005**, 81 (3), 649-653.
90. Yamazaki, M.; Hofmann, O.; Ryu, G.; Xiaoe, L.; Lee, T. K.; Demello, A. J.; Demello, J. C., Non-emissive colour filters for fluorescence detection. *Lab Chip* **2011**, 11 (7), 1228-1233.
91. Del Carlo, M.; Compagnone, D., Recent strategies for the biological sensing of pesticides: From the design to the application in real samples. *Bioanalytical Reviews* **2010**, 1 (2), 159-176.
92. Chiang, C. K.; Fincher, C. R.; Park, Y. W.; Heeger, A. J.; Shirakawa, H.; Louis, E. J.; Gau, S. C.; MacDiarmid, A. G., Electrical conductivity in doped polyacetylene. *Physical Review Letters* **1977**, 39 (17), 1098-1101.
93. Wang, Y.; Zhou, E.; Liu, Y.; Xi, H.; Ye, S.; Wu, W.; Guo, Y.; Di, C. A.; Sun, Y.; Yu, G.; Li, Y., Solution-processed organic field-effect transistors based on polythiophene derivatives with conjugated bridges as linking chains. *Chemistry of Materials* **2007**, 19 (14), 3361-3363.
94. Li, Y.; Zou, Y., Conjugated polymer photovoltaic materials with broad absorption band and high charge carrier mobility. *Adv. Mater.* **2008**, 20 (15), 2952-2958.
95. Schilinsky, P.; Waldauf, C.; Hauch, J.; Brabec, C. J., Polymer photovoltaic detectors: Progress and recent developments. *Thin Solid Films* **2004**, 451-452, 105-108.

96. Tang, C. W.; Vanslyke, S. A., Organic electroluminescent diodes. *Applied Physics Letters* **1987**, *51* (12), 913-915.
97. D'Andrade, B. W.; Forrest, S. R., White organic light-emitting devices for solid-state lighting. *Adv. Mater.* **2004**, *16* (18), 1585-1595.
98. Gong, X.; Tong, M.; Park, S. H.; Liu, M.; Jen, A.; Heeger, A. J., Semiconducting polymer photodetectors with electron and hole blocking layers: High detectivity in the near-infrared. *Sensors* **2010**, *10* (7), 6488-6496.
99. Yao, Y.; Liang, Y.; Shrotriya, V.; Xiao, S.; Yu, L.; Yang, Y., Plastic near-infrared photodetectors utilizing low band gap polymer. *Adv. Mater.* **2007**, *19* (22), 3979-3983.
100. Ryu, G.; Huang, J.; Hofmann, O.; Walshe, C. A.; Sze, J. Y. Y.; McClean, G. D.; Mosley, A.; Rattle, S. J.; Demello, J. C.; Demello, A. J.; Bradley, D. D. C., Highly sensitive fluorescence detection system for microfluidic lab-on-a-chip. *Lab Chip* **2011**, *11* (9), 1664-1670.
101. James, T. D.; Scullion, M. G.; Ashok, P. C.; Di Falco, A.; Dholakia, K.; Krauss, T. F., Valve controlled fluorescence detection system for remote sensing applications. *Microfluidics and Nanofluidics* **2011**, *11* (5), 529-536.
102. Cai, Y.; Shinar, R.; Zhou, Z.; Shinar, J., Multianalyte sensor array based on an organic light emitting diode platform. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2008**, *134* (2), 727-735.
103. Liu, R.; Cai, Y.; Park, J. M.; Ho, K. M.; Shinar, J.; Shinar, R., Organic light-emitting diode sensing platform: Challenges and solutions. *Advanced Functional Materials* **2011**, *21* (24), 4744-4753.
104. Shinar, J.; Shinar, R., Organic light-emitting devices (OLEDs) and OLED-based chemical and biological sensors: An overview. *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2008**, *41* (13).
105. Wang, X.; Amatongchai, M.; Nacapricha, D.; Hofmann, O.; de Mello, J. C.; Bradley, D. D. C.; de Mello, A. J., Thin-film organic photodiodes for integrated on-chip chemiluminescence detection - application to antioxidant capacity screening. *Sensors and Actuators, B: Chemical* **2009**, *140* (2), 643-648.
106. Wojciechowski, J. R.; Shriver-Lake, L. C.; Yamaguchi, M. Y.; Füreder, E.; Pieler, R.; Schamesberger, M.; Winder, C.; Prall, H. J.; Sonnleitner, M.; Ligler, F. S., Organic photodiodes for biosensor miniaturization. *Analytical Chemistry* **2009**, *81* (9), 3455-3461.
107. Pais, A.; Banerjee, A.; Klotzkin, D.; Papautsky, I., High-sensitivity, disposable lab-on-a-chip with thin-film organic electronics for fluorescence detection. *Lab Chip* **2008**, *8* (5), 794-800.
108. Wallace, R. J., Color filters for astronomical photography with reflecting telescopes. *Astrophysical Journal* **1906**, *24*, 268-277.
109. Sugiura, T., Dyed color filters for liquid-crystal displays. *Journal of the Society for Information Display* **1993**, *1* (2), 177-180.
110. Peumans, P.; Yakimov, A.; Forrest, S. R., Small molecular weight organic thin-film photodetectors and solar cells. *Journal of Applied Physics* **2003**, *93* (7), 3693-3723.
111. Peumans, P.; Bulović, V.; Forrest, S. R., Efficient, high-bandwidth organic multilayer photodetectors. *Applied Physics Letters* **2000**, *76* (26), 3855-3857.

112. Ramuz, M.; Bürgi, L.; Winnewisser, C.; Seitz, P., High sensitivity organic photodiodes with low dark currents and increased lifetimes. *Organic Electronics: physics, materials, applications* **2008**, *9* (3), 369-376.
113. Dandin, M.; Abshire, P.; Smela, E., Optical filtering technologies for integrated fluorescence sensors. *Lab Chip* **2007**, *7* (8), 955-977.
114. Macleod, H. A., *Thin Film Optical Filters* **1986**.
115. Huang, C. J.; Kang, C. C.; Lee, T. C.; Chen, W. R.; Meen, T. H., Improving the color purity and efficiency of blue organic light-emitting diodes (BOLED) by adding hole-blocking layer. *J. Lumin.* **2009**, *129* (11), 1292-1297.
116. Liang, Y.; Feng, D.; Wu, Y.; Tsai, S. T.; Li, G.; Ray, C.; Yu, L., Highly efficient solar cell polymers developed via fine-tuning of structural and electronic properties. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (22), 7792-7799.
117. Liang, Y.; Yu, L., A new class of semiconducting polymers for bulk heterojunction solar cells with exceptionally high performance. *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43* (9), 1227-1236.
118. Dennler, G.; Scharber, M. C.; Brabec, C. J., Polymer-fullerene bulk-heterojunction solar cells. *Adv. Mater.* **2009**, *21* (13), 1323-1338.
119. Dang, M. T.; Hirsch, L.; Wantz, G., P3HT:PCBM, best seller in polymer photovoltaic research. *Adv. Mater.* **2011**, *23* (31), 3597-3602.
120. Withrow, R. B.; Price, L., Filters for the Isolation of Narrow Regions in the Visible and Near-Visible Spectrum. *Plant Physiology* **1953**, *28* (1), 105-114.
121. Hofmann, O.; Wang, X.; Cornwell, A.; Beecher, S.; Raja, A.; Bradley, D. D. C.; DeMello, A. J.; DeMello, J. C., Monolithically integrated dye-doped PDMS long-pass filters for disposable on-chip fluorescence detection. *Lab Chip* **2006**, *6* (8), 981-987.
122. Hillis, D. M.; Heller, H. C., *Life: the Science of Biology*. Illustrated ed.; W. H. Freeman: 2011.
123. Park, J. M.; Gan, Z.; Leung, W. Y.; Liu, R.; Ye, Z.; Constant, K.; Shinar, J.; Shinar, R.; Ho, K. M., Soft holographic interference lithography microlens for enhanced organic light emitting diode light extraction. *Opt. Express* **2011**, *19* (14), A786-A792.
124. Ginley, D. S.; Bright, C., Transparent conducting oxides. *MRS Bulletin* **2000**, *25* (8), 15-21.
125. Hu, L.; Kim, H. S.; Lee, J. Y.; Peumans, P.; Cui, Y., Scalable coating and properties of transparent, flexible, silver nanowire electrodes. *ACS Nano* **2010**, *4* (5), 2955-2963.
126. Hecht, D. S.; Hu, L.; Irvin, G., Emerging transparent electrodes based on thin films of carbon nanotubes, graphene, and metallic nanostructures. *Adv. Mater.* **2011**, *23* (13), 1482-1513.
127. Liu, C. H.; Yu, X., Silver nanowire-based transparent, flexible, and conductive thin film. *Nanoscale Research Letters* **2011**, *6* (1), X1-8.
128. Madaria, A. R.; Kumar, A.; Zhou, C., Large scale, highly conductive and patterned transparent films of silver nanowires on arbitrary substrates and their application in touch screens. *Nanotechnology* **2011**, *22* (24).
129. Kholmanov, I. N.; Magnuson, C. W.; Aliev, A. E.; Li, H.; Zhang, B.; Suk, J. W.; Zhang, L. L.; Peng, E.; Mousavi, S. H.; Khanikaev, A. B.; Piner, R.; Shvets, G.;

- Ruoff, R. S., Improved electrical conductivity of graphene films integrated with metal nanowires. *Nano Letters* **2012**, *12* (11), 5679-5683.
130. Morgenstern, F. S. F.; Kabra, D.; Massip, S.; Brenner, T. J. K.; Lyons, P. E.; Coleman, J. N.; Friend, R. H., Ag-nanowire films coated with ZnO nanoparticles as a transparent electrode for solar cells. *Applied Physics Letters* **2011**, *99* (18).
  131. Alia, S. M.; Duong, K.; Liu, T.; Jensen, K.; Yan, Y., Supportless silver nanowires as oxygen reduction reaction catalysts for hydroxide-exchange membrane fuel cells. *ChemSusChem* **2012**, *5* (8), 1619-1624.
  132. Lim, E. J.; Choi, S. M.; Seo, M. H.; Kim, Y.; Lee, S.; Kim, W. B., Highly dispersed Ag nanoparticles on nanosheets of reduced graphene oxide for oxygen reduction reaction in alkaline media. *Electrochemistry Communications* **2013**, *28*, 100-103.
  133. Singh, P.; Buttry, D. A., Comparison of oxygen reduction reaction at silver nanoparticles and polycrystalline silver electrodes in alkaline solution. *Journal of Physical Chemistry C* **2012**, *116* (19), 10656-10663.
  134. Tammeveski, L.; Erikson, H.; Sarapuu, A.; Kozlova, J.; Ritslaid, P.; Sammelselg, V.; Tammeveski, K., Electrocatalytic oxygen reduction on silver nanoparticle/multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrodes in alkaline solution. *Electrochemistry Communications* **2012**, *20* (1), 15-18.
  135. Qin, X.; Wang, H.; Miao, Z.; Wang, X.; Fang, Y.; Chen, Q.; Shao, X., Synthesis of silver nanowires and their applications in the electrochemical detection of halide. *Talanta* **2011**, *84* (3), 673-678.
  136. Song, M. J.; Hwang, S. W.; Whang, D., Amperometric hydrogen peroxide biosensor based on a modified gold electrode with silver nanowires. *Journal of Applied Electrochemistry* **2010**, *40* (12), 2099-2105.
  137. Lee, J. H.; Lee, P.; Lee, D.; Lee, S. S.; Ko, S. H., Large-scale synthesis and characterization of very long silver nanowires via successive multistep growth. *Crystal Growth and Design* **2012**, *12* (11), 5598-5605.
  138. Lee, J.; Lee, P.; Lee, H.; Lee, D.; Lee, S. S.; Ko, S. H., Very long Ag nanowire synthesis and its application in a highly transparent, conductive and flexible metal electrode touch panel. *Nanoscale* **2012**, *4* (20), 6408-6414.
  139. Al-Kuhaili, M. F., Characterization of thin films produced by the thermal evaporation of silver oxide. *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2007**, *40* (9), 2847-2853.
  140. Hassan, H. H.; Ibrahim, M. A. M.; Rehim, S. S. A. E.; Amin, M. A., Comparative studies of the electrochemical behavior of silver electrode in chloride, bromide and iodide aqueous solutions. *International Journal of Electrochemical Science* **2010**, *5* (2), 278-294.
  141. Arai, K.; Kusu, F.; Noguchi, N.; Takamura, K.; Osawa, H., Selective determination of chloride and bromide ions in serum by cyclic voltammetry. *Analytical Biochemistry* **1996**, *240* (1), 109-113.
  142. Vanysek, P., *Revision of table of electrochemical series*. 79th ed.; CRC Pres: Boca Raton, 1998; p 8-21.
  143. Naumkin, A. V.; Kraut-Vass, S. W.; Gaarenstroom, S. W.; Powell, C. J. NIST X-ray Photoelectron Spectroscopy Database. <http://srdata.nist.gov/xps/> (récupéré le 19 août 2013).

144. Song, C.; Zhang, J., Electrocatalytic Oxygen Reduction Reaction. In *PEM Fuel Cell Electrocatalysts and Catalyst Layers*, Zhang, J., Ed. Springer London: 2009; pp 89-134.
145. Xu, K.; Jiang, H.; Juneau, P.; Qiu, B., Comparative studies on the photosynthetic responses of three freshwater phytoplankton species to temperature and light regimes. *J. Appl. Phycol.* **2012**, *24* (5), 1113-1122.
146. Chalifour, A.; Juneau, P., Temperature-dependent sensitivity of growth and photosynthesis of *Scenedesmus obliquus*, *Navicula pelliculosa* and two strains of *Microcystis aeruginosa* to the herbicide atrazine. *Aquatic Toxicology* **2011**, *103* (1-2), 9-17.
147. Cho, I.; Kim, S. H.; Kim, J. H.; Park, S.; Park, S. Y., Highly efficient and stable deep-blue emitting anthracene-derived molecular glass for versatile types of non-doped OLED applications. *Journal of Materials Chemistry* **2012**, *22* (1), 123-129.
148. Lee, K. H.; Park, J. K.; Seo, J. H.; Park, S. W.; Kim, Y. S.; Kim, Y. K.; Yoon, S. S., Efficient deep-blue and white organic light-emitting diodes based on triphenylsilane-substituted anthracene derivatives. *Journal of Materials Chemistry* **2011**, *21* (35), 13640-13648.